

**MASTER
ÉCOLOGIE-BIODIVERSITÉ
SPECIALITÉ ÉCOLOGIE ET DÉVELOPPEMENT DURABLE
PARCOURS EPSÉD
ÉLEVAGE DES PAYS DU SUD, ENVIRONNEMENT,
DÉVELOPPEMENT**

RAPPORT DE STAGE DE SECONDE ANNÉE

**Évaluation du potentiel méthanogène des fourrages naturels
consommés par les zébus peuls du Nord Sénégal en saison sèche**

Par Bérénice Bois

Encadrants : Alexandre Ickowicz et Amadou Tamsir Diop

Cirad France- ISRA Sénégal

Soutenue le 6 septembre 2013



Année 2012-2013

RAPPORT DE STAGE DE SECONDE ANNEE

**Evaluation du potentiel méthanogène des fourrages naturels
consommés par les zébus peuls du Nord Sénégal en saison sèche**

Par Bérénice Bois

Encadrants : Alexandre Ickowicz et Amadou Tamsir Diop

Cirad France- ISRA Sénégal

Michel Doreau

Diego Morgavi

INRA de Theix France

Résumé

Les expériences menées au Sénégal pour estimer de manière indirecte les émissions de méthane par les zébus Gobra au cours de la saison sèche, nourrissaient plusieurs objectifs : caractériser l'évolution qualitative des régimes alimentaires des animaux, évaluer le potentiel méthanogène de ces régimes, et identifier des indicateurs indirects de la production de méthane. Pour parvenir à ces objectifs 4 zébus ont été suivis 1 une journée chacun au cours de 4 périodes réparties de mai à juillet. La composition botanique, la composition biochimique (SPIR) de chaque régime puis leur fermentation in-vitro ont été déterminées ainsi que l'analyse biochimique des fèces par SPIR.

Nos travaux ont mis en évidence des changements saisonniers de régime alimentaire en termes de composition botanique et biochimiques, et d'émission de méthane. Ces variations semblent dues à la qualité des pâturages et à la consommation par les animaux de litière au sol qui diminuerait la production de CH₄. L'incorporation croissante des ligneux aux régimes alimentaires ne paraît pas affecter la production de CH₄. Notre étude n'a pas permis d'identifier des indicateurs indirects de l'émission de méthane par les zébus parmi les paramètres biochimiques analysés.

Les résultats obtenus seront la base de futures études dont les résultats serviront de référence pour les modèles prédictifs d'émission de GES. Cette analyse constituant une étude préliminaire à des travaux plus conséquents sur le même thème, elle répond donc aux objectifs de standardisation de la méthode à laquelle elle était destinée.

Summary

This internship, financed by the project Animal Change of the European Union, deals with methane production by local cattle in South Countries. The main goals of this internship were to study the seasonal variations of forages consumption by cattle (forage diet), the implications of these fluctuations in methane production and the possibility to defined botanical and biochemical indirect indicators of methane emission.

The experiments took place in the North of Senegal Republic, the Ferlo, at the end of the dry season (from May to July). Four Gobra zebus (zebus reared by Pulaar population) were followed a complete day, during which we collect all forages it consumed and also his faces. We followed a zebu per day and we repeated it 4 times during the season.

The analyses applied on samples were botanical identification, SPIR analyses and in-vitro fermentation. Our results showed little variations in the forage diet of the animals and in biochemical characteristics measured by SPIR, but the fermentation experiments revealed variations of methane emission during the dry seasons. Before the experiments we expected some biochemical and methane productions variations, induced by the increase of ligneous species in the regime. Nonetheless the variations of methane emission weren't linked to ligneous species but rather to low quality forages.

Our results didn't make obvious linked between biochemical or botanical parameters with CH₄ production, excepted NDF value in faces. Thus we didn't identify indirect indicators of CH₄ emission yet, but the conditions of our sampling could have biased our results. Therefore similar experiments improved by the lessons of this first experience should be pursuing during dry and wet seasons.

Lexique

ADF : Acid Detergent Fiber, mesure de la teneur en cellulose et lignine d'un échantillon. Elle est inversement proportionnelle à la digestibilité de l'échantillon puisque ces 2 éléments sont les moins dégradables.

ADL : Acid Detergent Lignin, mesure de la teneur en lignine ou lignine-cellulose d'un échantillon par dissolution dans un solvant acide.

MA : **Matière azotée**, fraction des aliments ou de la matière organique en générale dont les molécules contiennent des atomes d'azote, comme les protéines, les acides aminés, le nitrate, l'urée...

MAE ou N : **Matière azotée excrétée**, fraction de MA des aliments non digérée et non assimilée par l'organisme, qui est contenue dans les fèces.

MAD : **Matière azotée digestible**, fraction de l'aliment contenant de l'azote, susceptible d'être dégradée et absorbée par le tube digestif : $MAT - MAE$.

MAT : **Matière azotée totale**, teneur en azote des aliments végétaux (protéines, acides aminés, NH_4^+ , pour l'essentiel). $MAT = 6.25 \times \text{teneur en azote de l'aliment}$.

NDF : **Neutral Detergent Fiber**, mesure de la teneur en cellulose, lignine et hemicellulose d'un échantillon. Cette analyse proche de l'ADF renseigne également sur la digestibilité de l'échantillon et dose 3 éléments indispensables à la structure des tissus végétaux.

SPIR : **Spectrométrie Proche Infra Rouge**, technique de mesure de la teneur en composantes biochimiques (% protéines, de fibres....) d'un échantillon, utilisant les propriétés d'absorbance de la lumière dans le proche infra rouge (800-2500nm)

Table des matières

I. Introduction	1
II. Matériel et méthode	3
2.1. Contexte de l'étude	3
2.1.1 Projet Animal Change	3
2.1.2 Contexte socio géographique	3
2.1.3 Emission de méthane entérique	4
2.2. Echantillonnage et Analyses	5
2.2.1 Méthodologie	5
2.2.2 Traitement des échantillons	6
2.2.3 Analyses des échantillons	7
III. Résultats	9
3.1. Adéquation de la méthodologie et du terrain d'étude	9
3.1.1 Adaptation immédiate de la méthodologie aux conditions de terrain	9
3.1.2 Adaptation des analyses des régimes en fonction des conditions	11
3.3. Estimation du Potentiel méthanogène	12
3.2 Evolution des régimes alimentaires	14
3.2.1 Caractéristiques botaniques des régimes	14
3.2.2 Caractéristiques biochimiques (régimes et fèces)	17
3.3. Analyse des relations entre descripteurs de régimes et émissions de méthane	20
IV. Discussions	24
4.1 Améliorations méthodologiques	24
4.2 Evolution de la production de méthane au cours de la saison sèche	25
4.3 Indicateurs de l'émission de méthane	27
4.4 Contribution de ce stage au projet Animal Change	29
V. Conclusions	30
VI Bibliographie	31
VII. Annexes	37

Liste des tableaux

Tableau 1. Résultats des tests effectués pour déterminer la variation de la composition des régimes au cours des 4 périodes de collecte.15

Tableau 2. Résultats des tests effectués évaluer les variations de la teneur en MO, MAT, NDF, ADL et SMO des régimes au cours des 4 périodes de collecte.....1518

**Tableau 3 Valeurs moyennes de la teneur en azote, protéines, NDF et ADF des fèces pour les 4 périodes d'échantillonnage (mesurées par SPIR)
.....23**

Liste des Figures

Figure 1 Position géographique des 4 zones d'échantillonnages. Source Google earth.....	5
Figure 2. Résumé schématique du travail de terrain prévu (A) et réel (B) et conséquences sur les échantillons collectés.	10
Figure 3 Production de CH ₄ (ml) par fermentation in-vitro des régimes et de certaines espèces qui les composent (valeur moyenne pour les 3 séries).	13
Figure 4. Richesse spécifique cumulées (nombre d'espèces) des régimes fourragers quotidiens de chaque animal par période de collecte.....	14
Figure 5. Composition des régimes fourragers quotidiens (fréquences relatives définies comme le % du poids sec total de l'échantillon) des 6 zébus suivis au cours des 4 périodes d'expérimentation. 1: période 1, 2: période 2, 3 période 3, 4: période 4.	16
Figure 6 Contribution moyenne des ligneux (totale et par organes : feuilles et branches) aux régimes alimentaires par période de collecte.....	17
Figure 7. Composition biochimique moyenne des régimes et de leurs constituants déterminés par analyse SPIR.	19
Figure 8. Représentation graphique des relations de corrélations entre volume de méthane émis et paramètres botaniques et biochimiques	22
Figure 9 . Résultats de l'ACP globale intégrant les paramètres biochimiques, botaniques et la production de CH ₄ : 1 projection des variables ; 2 projections des individus (régimes).....	23
Figure 10. Résultats de l'ACP décrivant les relations entre volume de CH ₄ produit, et caractéristiques biochimiques des fèces : 1 projection des variables ; 2 projection des individus (fèces). N, NDF1 et ADL1 correspondent respectivement aux % d'azote, de NDF et d'ADL des fèces analysés par SPIR.	24

Remerciements

Je remercie sincèrement Alexandre Ickowicz et Tamsir Diop de m'avoir choisi pour effectuer ce stage, de m'avoir laissé transpirer moi-même sur le terrain et surtout d'avoir été disponibles pendant ces 6 mois. Merci Tamsir pour les leçons de morales et les conseils de « broussards ». Cette expérience ne m'aura pas convaincu de travailler dans l'élevage mais elle restera une expérience positive.

Merci Christian Corniaux pour m'avoir remonté le moral, pour votre bonne humeur, et votre aide. Je vous enverrai une caisse d'holothurie c'est promis.

Merci à Michel Doreau et Diego Morgavi pour leur aide à Theix qui a été indispensable, pour les lectures express de mémoires et pour m'avoir généreusement hébergée.

Merci à Elodie Baby et Laurent Bonal pour avoir effectué les analyses de SPIR...110 échantillons tout de même.

Merci Philippe Lecomte et Corinne Chaillan pour leur disponibilité et les encouragements.

Des remerciements généraux, à toute l'équipe du PPZS et de l'ISRA pour m'avoir si bien accueilli.

Merci à super Moustafa pour son appui sur le terrain, pour les plans B qui marchent quand tout est perdu.

Merci à toute l'équipe pédagogique pour son soutien, son suivi tout au long de l'année et un merci particulier à Y. Huguenin pour cette dernière ligne droite qu'était la rédaction du rapport.

Merci à Gérard Balente de m'avoir prêté le guide ornitho, il m'a si bien servi en brousse.

Merci à tous mes partenaires de terrain : la famille d'Abdou Salam So, surtout Abi et Mamadou, Aminata, et le personnel du CRZ pour l'aide sur place et l'esprit positiviste.

Merci surtout à la famille Diallo sans qui mon passage au Sénégal aurait perdu l'essentiel de son sens. Merci pour le réconfort, pour la vie ensemble, pour les conseils culinaires et surtout la bonne humeur. Je reviendrai sur la teranga et ce sera pour vous.

Merci aux gazeles... « une pour toutes, toutes pour une », je crois que la devise résume assez bien tout ce que je vous dois.

Grazas Brais por o seu apoio, por o seu confor.... y muchas cosas que no se pueden decir.

Merci à tous les stagiaires de l'ISRA, Emilie, Allun, Ibrahim, et surtout Babacar et Cheik qui ont partagé mon terrain sans oublier Sergio.

Merci chères parents, pour les mêmes raisons que d'habitude !

Merci le groupe des neuf + 2 dont le barycentre est toujours à Dijon, nul besoin de détailler vous vous savez déjà irremplaçables.

Merci Emile, mon petit Emile pour ton agréable compagnie et ton attention

Introduction

La consommation de produits d'origine animale ne cesse d'augmenter (McMichael et al 2007), notamment dans les pays dits du « Sud » en raison de l'accroissement démographique et des changements de mode de vie. Dans le contexte actuel de lutte contre les changements globaux, l'élevage s'avère à la fois victime des changements climatiques auxquels il est vulnérable (Leichenko & O'Brein 2001, Asner et al. 2004, Patz et al. 2008, Hein et al. 2009) et participant actif de l'intensification de ces changements (Moss et al. 2000, Asner et al. 2004, Koneswaran & Nierenberg 2008). En effet l'élevage dans les pays du Sud, est principalement de type extensif et dépend donc très étroitement du milieu environnant et à fortiori de ses modifications. Cependant l'élevage agit également sur le milieu au niveau spatial, énergétique, hydrologique (Kaufman et al. 1983, Belsky et al. 1999) et climatique. L'évaluation précise des relations bilatérales entre production animale et environnement s'avère donc indispensable mais contraignante en raison de la diversité des systèmes de production et de la difficulté à mener ces études dans certaines régions du monde.

L'une des évaluations de l'impact de l'élevage sur l'environnement réalisée par la FAO et publiée sous le titre de « Livestock Long Shadow » en 2006, estime que le bétail utiliserait 30% des terres exploitées ; 8% de l'eau douce disponible actuellement et émettrait directement plusieurs millions de tonnes de gaz à effet de serre (GES : 3131 millions de tonnes de dioxyde de carbone CO₂, 86 millions de tonne de méthane CH₄, et protoxyde d'azote NO₂). Ce rapport qui compare différents systèmes de production afin de cibler le plus économe en ressources et énergies et le moins polluant, se prononce en faveur de l'élevage intensif plus avantageux selon ces critères que l'élevage extensif. Cependant les systèmes de production intensifs concernent essentiellement les pays dits du Nord et les systèmes extensifs majoritairement les états du Sud. Cette étude semble ainsi biaisée car si les élevages intensifs ont été bien référencés au nord, à l'inverse les études s'avèrent peu nombreuses au sud et donc peu représentatives

La contribution réelle des pratiques d'élevages Nord et Sud dans le phénomène de changements climatiques doit donc être plus justement évaluée, ce à quoi s'emploie en partie le projet Animal Change. L'Union Européenne a initié ce programme (2010-2013) afin d'étudier la vulnérabilité de l'élevage, son adaptation et son impact sur les changements climatiques. Les préoccupations actuelles vis-à-vis du réchauffement de la planète ont placé les émissions de

GES au cœur du projet qui a pour objectifs d'estimer ces émissions en tenant compte des différents modes de productions et des différences climatiques.

Les GES produits par l'élevage sont le CO₂ et le CH₄ émis par les ruminants lors de la fermentation des excréments et la production de méthane entérique (fermentation bactérienne dans le rumen) (Jonhson & Jonhson 1995, Gac et al. 2006, Garnett 2009, Lesschen et al. 2011). Le méthane ayant un pouvoir réchauffant de l'ordre de 25 équivalents CO₂, le projet met donc un accent particulier sur l'étude de la production de CH₄ par les ruminants (Steinfeld et al. 2006).

L'émission de CH₄ par les ruminants sur parcours est difficile à mettre en œuvre et particulièrement méconnue dans les pays du Sud où l'intérêt pour les émissions de GES est récent (projet Animal Change) et où les pratiques d'élevage compliquent la possibilité d'effectuer ces analyses. Notre terrain d'étude, le Sénégal est un bon exemple de pays concerné par ces difficultés techniques d'une part parce que le climat de type sahélien et la végétation associée sont très variables d'une année à l'autre et au cours de l'année ; d'autre part car les éleveurs sont majoritairement des pasteurs transhumants (rapport RPCA 2010, Touré et al. 2012). De ce fait l'alimentation des animaux, des zébus peuls, varie donc en fonction des saisons et du parcours. L'émission de CH₄ par les ruminants dépend du régime alimentaire du bétail, et des microorganismes du rumen (McCaughey et al. 1999, Dönmez et al. 2003, Boadi et al. 2004, Foley et al. 2008, Guan et al. 2013, Mc Guin et al 2013), or aucune étude n'a été menée en région sahélienne jusqu'alors pour connaître les effets précis de ces 2 paramètres sur la production de CH₄.

Notre étude, soutenue par le projet Animal Change, a plusieurs objectifs : caractériser le régime alimentaire des zébus peuls en identifiant les espèces végétales consommées et leur caractéristiques biochimiques ; mesurer les variations de ce régime au cours des saisons ; déterminer comment ces variations de régime agissent sur les populations de microorganismes du rumen et l'émission de méthane ; définir des techniques indirectes simples pour estimer la production de méthane par les zébus ; et surtout en amont définir une méthodologie adaptée applicable au cours des différentes saisons. Ce travail n'ayant jamais été effectué au Sénégal, il s'agit d'un travail exploratoire dont l'objectif initial est d'obtenir des premiers résultats et de mettre en place les techniques et protocoles pérennes qui seront utilisées lors de la poursuite du projet Animal Change.

II. Matériel et méthode

2.1. Contexte de l'étude

2.1.1Projet Animal Change

Le projet Animal Change est un programme de 3 ans (2010-2013) financé et mis en œuvre par l'Union Européenne dans le cadre de l'étude des relations bilatérales entre production animale et changements climatiques. La contribution de l'élevage dans l'émission de gaz à effet de serre ; la vulnérabilité du bétail face aux changements climatiques ; ses capacités d'adaptation et le développement de nouvelles technologies permettant d'atténuer la production de GES constituent les principales priorités d'Animal Change (www.animalchange.eu).

La finalité du projet vise à fournir aux gouvernements, écologues et professionnels de l'élevage des informations sur l'évolution des changements climatiques et de la production sur la base de simulations issues des modèles prédictifs élaborés à différentes échelles (animal, exploitation, territoire) dans le cadre du projet. Le programme alimente ces modèles grâce à des travaux de recherche menés au sein de l'UE, mais également dans les pays partenaires tels que le Brésil, la Tunisie, le Sénégal, l'Afrique du Sud, le Kenya et la Nouvelle Zélande. Par cette collaboration internationale le projet couvre une diversité de climats et de systèmes d'élevage large, répondant parfaitement à l'enjeu global que représente les émissions de GES et la réponse de la production animale.

2.1.2 Contexte sociogéographique

L'ensemble des travaux se sont déroulées dans le Ferlo, région sahélienne correspondant à la zone sylvopastorale au Nord du Sénégal. Le Sahel correspond à la zone de transition entre le Sahara sec et le climat soudano guinéen de type sub-humide (Touré et al. 2012). Ce climat est caractérisé par l'alternance d'une longue saison sèche de novembre à juin et d'une courte saison des pluies de juillet à octobre (Lebel et al. 2003) qui conditionne la disponibilité en fourrage de l'année suivante (Annexe 1.). En région sahélienne, les précipitations varient selon un gradient nord-sud de 150 à 600mm de pluie par an (Touré et al. 2012).

La région du Ferlo est traditionnellement consacrée à l'élevage transhumant particulièrement adapté à ce climat sahélien très variable (Faye 1993, Andriensen & Nielsen

2005, rapport RPCA 2010, Touré et al. 2012). Les éleveurs transhumants appartiennent ici à l'ethnie Peul, présente dans toute l'Afrique de l'ouest, du Sénégal au Tchad. Ils séjournent au nord du Ferlo sur les grands pâturages pendant la saison humide et gagnent le sud en période de saison sèche, les animaux, des zébus gobras, étant laissés en libre pâture la journée et la nuit.

Les bovins s'adaptent aux contraintes de leurs propriétaires et du milieu, leur régime alimentaire évolue donc au cours de l'année (Ayantude et al. 1999). Il se compose essentiellement d'herbacés en saison des pluies, puis est enrichi en résidus de récolte en début de saison sèche pour devenir de plus en plus pauvre avec la progression de la saison (Hiernaux & Le Houérou 2006). En fin de saison sèche les herbacés ne subsistent plus qu'à l'état de paille et les animaux doivent se reporter sur les ligneux (Ickowicz & MBaye 2001). Toutes ces espèces végétales ont des valeurs énergétiques, azotées, de digestibilité très différentes (Guérin 1987) responsables du comportement alimentaire sélectif des animaux (Agreil & Meuret 2004, Ouedraogo et al 2006, Sanon et al. 2007, Guérin 1987).

2.1.3 Emission de méthane entérique

Le tube digestif des ruminants possède la particularité de comporter 3 préestomacs communicants, dont les activités respectives permettent la digestion des plantes ingérées dans une atmosphère anaérobie (Umphrey & Stapp 1992, Jarrige et al. 1995, Gilles et al 2006) (Annexe.2). Les tissus végétaux contiennent certains éléments tels que la lignine, la cellulose ou l'hémicellulose de la paroi cellulaire, qui résistent aux enzymes digestives des ruminants mais que les microorganismes du rumen, protozoaires, bactéries, et champignons peuvent dégrader (Belbis 2007).

Les protozoaires et certaines bactéries lysent les parois par sécrétion d'enzymes ou par phagocytose, et les premiers produits de dégradation sont : l'ammoniac, les minéraux et les sucres (Hungate 1960, Belbis 2007, Sadet 2008). Ces sucres sont par la suite fermentés par des bactéries et transformés en Acides Gras Volatils (AGV), absorbés au travers de la paroi du rumen et intégrés à la circulation générale. La chaîne de réactions libère du dioxyde de carbone et de l'hydrogène qui sont métabolisés par les archées (appelés méthanogènes) qui les utilisent comme substrat pour produire du méthane et de l'eau (Annexe 2). Ce méthane est ensuite éructé par l'animal. L'activité des microorganismes et surtout la production de méthane est traditionnellement approximée par la fermentation *in vitro*. Elle consiste à reproduire dans un fermenteur un milieu anaérobie, aqueux de pH 6 comparable au rumen afin de simuler l'activité des microorganismes du rumen en présence de fourrage expérimentaux.

2.2. Echantillonnage et Analyses

2.2.1 Méthodologie

Le travail de terrain (observations, collecte des échantillons) a été réalisé dans le Ferlo, zone pastorale semi-aride au nord du Sénégal. Quatre périodes de prélèvements de 8 à 12 jours, espacées de 8 à 10 jours ont été effectuées entre le 01/05 et le 09/07, ce qui correspond à la période où les variations de régime des ruminants sur parcours sahéliens sont les plus importantes en terme d'espèces ingérées. Deux troupeaux ont été suivis :

- un troupeau transhumant (31 têtes), appartenant à Abdou Salam So dans le Ferlo qui s'est déplacé du forage de Niassanté, à celui de Bouténi puis Tésékéré dans la zone du Djeri (Figure 1)
- un troupeau sédentaire (120 têtes) appartenant au Centre de Recherche Zootechnique de Dahra (Figure 1), permettant ainsi d'appréhender la variabilité au niveau temporel et spatial de la composition des régimes alimentaires.

Sur chaque site 3 animaux : des femelles adultes, non complémentées, non gestantes et tarées sont choisies et suivies pendant les 4 missions de terrain

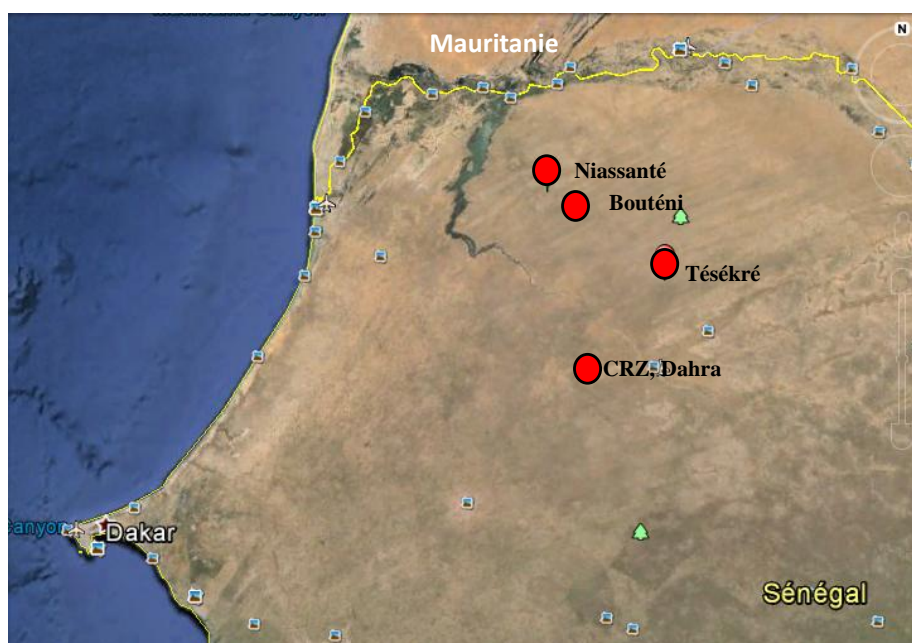


Figure 1 Position géographique des 4 zones d'échantillonnages. Source Google earth.

Les paramètres mesurés sont les suivants :

- **Le comportement alimentaire**, qui est observée en continu et dont chaque bouchée est reproduite mimétiquement en quantité et en qualité : L'observateur suit à une distance de 1-2m les déplacements de l'animal, et prélève selon la méthode de collecte du berger. La collecte du

berger consiste à mimer le broutage des bovins, en observant l'animal pendant sa prise alimentaire et reproduisant en temps réel son broutage. Le nombre de prises alimentaires et la nature des espèces est comptabilisé toutes les heures et le trajet des bêtes enregistré par GPS.

Les échantillons collectés sècheront à l'air libre dans les sacs de riz (de 50l utilisés pour la collecte) puis séchés à l'étuve au laboratoire.

- **La composition et la qualité des régimes ont aussi été estimées indirectement** en prélevant les fèces de l'animal observé, le lendemain matin dans un sac de paille de riz en attendant d'être analysés. Ces échantillons ont été également séchés à l'air libre puis à l'étuve.
- **La composition du jus de rumen**, à Dahra uniquement car seul lieu où la contention des animaux est possible. L'animal observé est isolé le soir et soumis au jeun jusqu'au prélèvement de jus de rumen le lendemain matin. Le jus de rumen est aspiré à l'aide d'une sonde œsophagienne reliée à une pompe à vide et à un récipient métallique.

2.2.2. Traitement des échantillons

Régimes alimentaires quotidiens

A Dakar dans les laboratoires de l'ISRA, chaque sac contenant le régime alimentaire quotidien d'un individu est trié par espèce et par organe (feuilles, fruits, branches), qui seront séchés séparément à l'étuve à 60°C pendant 48h et pesés avant et après séchage. Cette méthode permet de connaître la contribution pondérale (poids sec) de chaque espèce au régime. Par la suite une fraction de chaque espèce sera conservée pour des analyses individuelles, et le régime alimentaire sera reconstitué en mélangeant le reste dans les proportions déterminées à l'étape précédente. Les échantillons sont préservés dans des sacs en plastique hermétiques.

Jus de rumen

Le jus de rumen est filtré en traversant un filtre de 250µm afin d'éliminer les particules végétales partiellement digérées ; puis le filtrat est récupéré dans un flacon et son volume mesuré.

2x40ml de ce filtrat sont prélevés et transférés dans 2 tubes Falcon stériles de 50ml puis immédiatement congelés à -20°C. Ces extraits seront réservés aux analyses de génétique

moléculaire qui permettent d'estimer les concentrations respectives de bactéries et de méthanogènes dans le jus de rumen.

2x5ml de filtrat sont prélevés, distribuée dans 2 tubes Falcon de 15ml et mélangés à 5ml de solution tampon MFS chacun (composition MFS Annexe 3). Ces échantillons sont destinés au comptage des protozoaires, la solution MFS permet leur conservation et constitue le seul moyen existant (la cryogénisation provoquant leur explosion).

2.2.3. Analyses des échantillons

SPIR

Ces analyses ont été réalisées au laboratoire de nutrition du CIRAD Baillarguet (UMR SELMET). La spectroscopie proche infra rouge, est une technique permettant d'estimer la composition chimique d'un échantillon en s'appuyant sur les différents niveaux d'absorbance des éléments qui la composent (Bertrand.D. 2002, Givens et al.). Deux grammes d'échantillons (fèces ou végétaux) sont analysés dans un spectromètre à filtre (ref, λ e [800-2500] nm), et les profils d'absorbances comparés à des standards de références déterminés sur des échantillons comparables. Les paramètres tels que la MM, la MO, la MAT, la NDF, et l'ADL seront déterminés à l'issue de l'analyse (voir lexique pour les définitions).

Méthanisation entérique

Ces analyses ont été réalisées au Laboratoire de l'INRA de Theix (Unité de Recherche sur les Herbivores URH). Le potentiel méthanogène de chaque échantillon préalablement séché et broyé (régimes et espèces) est mesuré en les laissant fermenter individuellement avec du jus de rumen frais et un milieu tampon (Annexe 3). Chaque échantillon est mis à fermenter 3 fois en incubant avec 3 mélanges différents de jus de rumen, 3 jours différents pour minimiser les effets des paramètres externes (pression, qualité du jus de rumen, manipulation...).

Le jus de rumen est prélevé le matin sur des animaux fistulés de l'INRA de Theix (moutons texel), demeurés à jeun depuis la veille (Archimède et al. 2013, Morgavi et al. 2013). Dans un fermenteur en verre saturés en CO₂ sont ajoutés 400mg d'échantillons broyés, puis 25ml de milieu tampon et 15ml de jus de rumen frais. L'ensemble fermente pendant 24h au bain marie à 39°C, à l'issue des quelles la pression interne du fermenteur est mesurée, et le gaz recueilli grâce à une seringue. Le contenu de la seringue est ensuite analysé en chromatographie

en phase gazeuse. Le liquide resté dans le fermenteur sera utilisé ultérieurement pour analyser les acides gras volatils et la teneur en ammoniac.

Le milieu tampon garantit le maintien du pH à 6 et permet de compenser l'étape de la rumination en humidifiant l'échantillon. Le respect de l'anaérobiose est obtenu en insufflant du gaz carbonique dans les fermenteurs.

Analyses microbiologiques

En raison de problèmes techniques détaillés dans la section 3.1.1 du rapport, les échantillons de jus de rumen n'ont pas eu être rapatriés du Sénégal et n'ont donc pas été analysés à l'exception des protozoaires. La méthodologie correspondant aux analyses microbiennes n'est donc pas présentée ici mais en Annexe 4.

Analyses statistiques

Analyses des émissions de CH₄

Pour estimer la significativité des variations de production de CH₄ après fermentation entérique nous avons utilisé le modèle Procedure Mixed développé par le logiciel SAS. Il s'agit d'un modèle linéaire globale à effets mixtes spécialisé pour les analyses de répétitions comme cela est le cas pour nos échantillons qui ont été mis à fermenté 3 fois.

Le modèle Procedure Mixed (Proc. Mixed, SAS) considère chaque réplicat comme un individu statistique et chaque échantillon est donc assimilé à une « population statistique ». Proc. Mixed estime ensuite la contribution des paramètres à effets fixes (série, période et site) et aléatoires (animal) dans la production de CH₄ et procède à une analyse de variance entre les échantillons (« populations ») par paire. L'effet série correspond à la journée d'incubation.

Analyses botaniques et biochimiques des régimes

Les 15 régimes alimentaires seront considérés lors des analyses comme des individus statistiques indépendant malgré le fait que certains aient été constitués en observant le même animal à des périodes différentes. En effet le facteur principal agissant sur les régimes serait le choix des aliments par les animaux, or le milieu et l'état des zones de pâtures en saison sèche limitent ce comportement.

Nous calculons la contribution pondérale des différents végétaux aux régimes alimentaires selon la formule : poids sec de l'espèce / Σ poids secs des espèces * 100, pour un végétal et un régime donné. La contribution pondérale, est considérée comme une variable numérique continue classique.

Lorsque nous analysons une variable nous regroupons les individus par période (population statistique = une période = 4 animaux suivis) puis nous mesurons par un test de Kruskal Wallis si les valeurs de ces variables diffèrent entre les périodes. Si ce test suggère l'existence de différences significatives nous appliquons un test post hoc de Diegel Castellan à la variable afin d'identifier les périodes qui diffèrent les unes des autres.

Les variables ainsi analysées sont : la contribution pondérale, la MO, la MAT, la NDF, l'ADL et la SMO. Nous effectuons un test par variable, et pour la contribution pondérale un test par classe de végétaux. Un χ^2 de distribution est également effectué pour comparer entre régimes la contribution pondérale des différentes espèces.

Analyses des interactions entre émission de CH₄ et caractéristiques botaniques-biochimiques

Afin d'identifier parmi nos paramètres biochimiques et botaniques les potentiels indicateurs d'émission de CH₄, nous avons testé leurs corrélations par des ACP ainsi que par des tests de corrélation de Spearman.

L'ensemble des tests statistiques ont été réalisés avec le logiciel Rstudio, et le seuil de significativité fixé à $p=0.05$.

III Résultats

3.1 Adéquations de la méthodologie et du terrain d'études

3.1.1. Adaptation immédiate de la méthodologie aux conditions de terrain

Initialement il était prévu de suivre 3 animaux sur chacun des 2 sites en comptant 4 périodes de suivi de 8 à 12 jours maximum, puis de procéder au tri de ces échantillons en discriminant les espèces de végétaux à Dakar. Ci-dessous est présenté un diagramme (Figure

2) résumant les conditions prévues et réelles de la collecte de données ainsi que les contraintes majeures à régler pour les prochaines expérimentations.

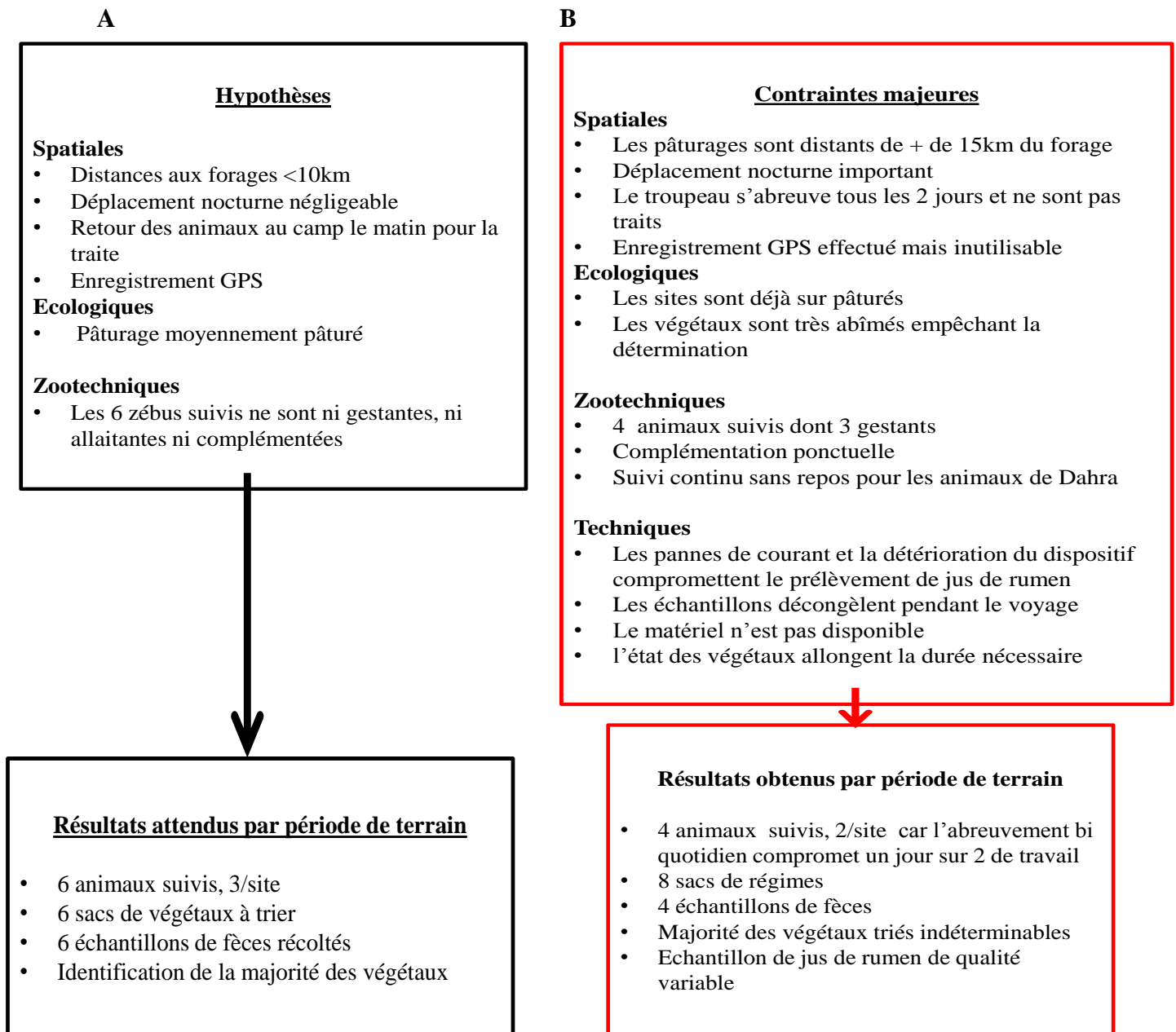


Figure 2.Résumé schématique du travail de terrain prévu (A) et réel (B) et conséquences sur les échantillons collectés.

Le milieu rencontré a évolué au cours de la saison de collecte de données, à Dahra le pâturage qui a été fauché par le personnel en début de saison sèche, était déjà très pâturé dès la première période de terrain et son état s'est progressivement dégradé. La détérioration du milieu s'est accentué jusqu'en 3^{ème} période après quoi les animaux ont été stabulés et nourris par la paille fauchée préalablement.

Dans le Ferlo, les animaux se trouvaient aux alentours du forage de Niassanté pendant les 2 premiers épisodes d'échantillonnage. Ce site déjà très pâturé qui était ponctuellement fauché par les éleveurs de la zone, s'est dégradé entre les 2 missions de terrain. Par la suite ils

ont transhumés vers le forage de Bouteni (20km de Niassanté) et Tessekre (90km de Niassanté) où les pâturages étaient beaucoup moins pâturés (strate herbacée encore présente sur pied). La 2^{ème} période de terrain était donc la plus pauvre en disponible fourrager pour les animaux du Ferlo, la qualité des pâturages a augmentée lors des épisodes suivant avec le déplacement.

Pendant la période de suivi, les animaux pâturaient librement sur parcours ou dans l'enceinte du CRZ, à l'exception d'un animal qui a brouté toute la journée les résidus de niébé (*Vigna unguiculata*) lors de la 3^{ème} période de suivi. Les analyses subséquentes ne prendront donc pas en compte cet individu qui n'est pas représentatif d'un animal sur parcours en zone sahélienne.

Les 4 animaux suivis lors de la première période de terrain sont appelées : A et B dans le Ferlo ; D1 et D2 à Dahra. Les zébus B et D2 ayant mis bas entre la 2^{ème} et la 3^{ème} période elles ont été remplacées respectivement par les animaux C et D3. Pour plus de clarté les régimes qui leur sont associés sont codés selon le système suivant : N° de période . Matricule animale par exemple 1.A se réfère au régime alimentaire collecté lors du suivi de l'animal A pendant le 1^{er} séjour sur le terrain.

Les échantillons de jus de rumen congelé n'ont pas encore pu être importés en France, car la lyophilisation n'a pas été possible et leur transport congelé jusqu'à Theix était risqué, seul les échantillons de protozoaires ont été analysé (Annexe 5).

3.1.2. Adaptation des analyses des régimes en fonction des conditions

La végétation étant comme décrits ci-dessus déjà très pâturée et fauchée, ils ne restaient pour la plus part des graminées que des fragments d'inflorescence. S'il est aisé de dissocier les graminées des autres végétaux grâce aux traits typiques du chaume (tige creuse et glabre), sans inflorescence ces tiges ne sont pas assignables à une espèce précise et demeure indéterminées.

Cinq espèces de graminées ont été identifiées: *Aristida mutabilis*, *Schoenefeldia gracilis*, *Chloris gayana*, *Dactyloctenium aegyptium* et *Eragrostis tremula*. Pour les analyses 3 catégories ont alors été distinguées : les tiges de graminées encore enracinées, les pailles : fragments de graminées de taille variable [5cm ; 15cm] au sol, et la litière (sens écologique du terme) qui regroupe graines et fragments de végétaux au sol [>1cm ; 5cm] (graminées et autres indéterminées en raison de leur taille). Ces 3 classes ont été constituées car elles peuvent avoir des caractéristiques biochimiques différentes notamment la litière.

Trois espèces de ligneux : *Boscia senegalensis* (feuilles et branches), *Balanites aegyptiaca*, et *Calotropis procera* (feuilles et branches) ainsi que des fragments non imputables à une espèce précise ont été rencontrés. Nous avons donc conservé ces 5 catégories pour les analyser séparément.

Les légumineuses ont été isolées grâce au reste de leur inflorescence très particulière mais n'ont pas pu être discriminée à l'échelle de l'espèce.

Au total 18 classes de végétaux ont été constituées, les voici ainsi que le code sous lequel elles apparaîtront dans la légende des figures :

- <i>A. mutabilis</i> : A.m	-branche de <i>B.senegalensis</i> : B.s
- <i>S.gracilis</i> : S.g	- feuille de <i>C.procera</i> : C.p.f
- <i>C.gayana</i> : C.g	- feuille sèche de <i>C.procera</i> : C.p.s
- <i>D.aegyptium</i> : D.a	- branche de <i>C.procera</i> : C.p
- <i>E.tremula</i> : E.t	- branche de <i>B.aegyptium</i> : B.a
- paille de graminées : P	- branche de ligneux indéterminées : L.i
- litière : R	-branche de ligneux toute espèce confondue : Lb
- tige de graminée : Tg	-légumineuse : L
- graminées complète (chaume + inflorescence)	- inflorescence : somme des fragments
récupérée en plus des régimes dans le milieu : T	d'inflorescence des 5 espèces de graminées : I
- feuille de <i>B.senegalensis</i> : B.s.f	

La fermentation in-vitro n'a pas pu être réalisée pour toutes les catégories de végétaux, d'une part parce que pour certaines les quantités récoltées n'étaient pas suffisantes, d'autre part parce que le temps consacré à ces expérimentations était insuffisant pour les fermenter tous.

3.2. Estimation du potentiel méthanogène des régimes

Ni le site ni l'animal ne participent aux variations observés de volume de CH₄ produit (F site= 4.25, ddl=3, p=0.23 ; F animal= 1.84, ddl=5, p=0.15) ; contrairement à la période, donc l'avancée dans la saison sèche et à la série qui agissent sur l'émission de méthane (F période =10.43, ddf=3, p<0.0001 ; F série =4025, ddl=3, p=0.01). Des effets croisés sont également testé, tel que l'interaction période et site (F=0.18, ddf=3, p=0.91) ou animal et site (F=1.84, ddf=4, p=0.15). L'effet de la série signifie que les conditions expérimentales, i.e. les facteurs non contrôlables (acidité du jus de rumen, communauté de microorganismes en présence, Pression atmosphérique...) mais aussi les manipulations ont pu conduire à une

inhibition partielle de la fermentation ou une pollution lors de l'injection dans la CG par exemple.

L'émission de méthane diminue entre le 1er épisode de collecte et le 2^{ème}, stagne puis augmente pour atteindre une valeur moyenne quasi égale à celle initiale au 4^{ème} épisode. Ce qui implique que la production de CH₄ n'est pas linéaire (Figure 3), i.e. à chaque pas de temps elle ne varie pas selon un coefficient constant et cette fluctuation n'est pas dirigée. Les variations se produisent dans des marges étroites (0.06-1.35ml, soit 0.5% -11% du volume de CH₄ produit), pourtant certaines sont significatives et suggèrent donc que les variations de composition entre ces 2 périodes suffisent à agir sur l'émission de CH₄. De telles différences existent entre les périodes 1 et 2, 2 et 4, 3 et 4.

La Figure 3 nous permet de situer le niveau d'émission de CH₄ des régimes par rapport à celles de certains de leurs constituants.

Toutes les classes de végétaux n'ont pu être analysés par fermentation in vitro, et pour celles qui l'ont été, cela n'a pu être possible que pour un échantillon de chaque (au mieux 2).

La Figure 3 montre que certains groupes comme les branches de ligneux tendraient à être moins méthanogènes que les feuilles (issues des mêmes espèces de ligneux) les graminées (inflorescence et tiges) ou les légumineuses. La fermentation des branches toutes espèces confondues ne représenterait en moyenne que 10.5ml, tandis que les graminées ou les feuilles engendreraient une émission de 12.5 et les légumineuses 12.6ml.

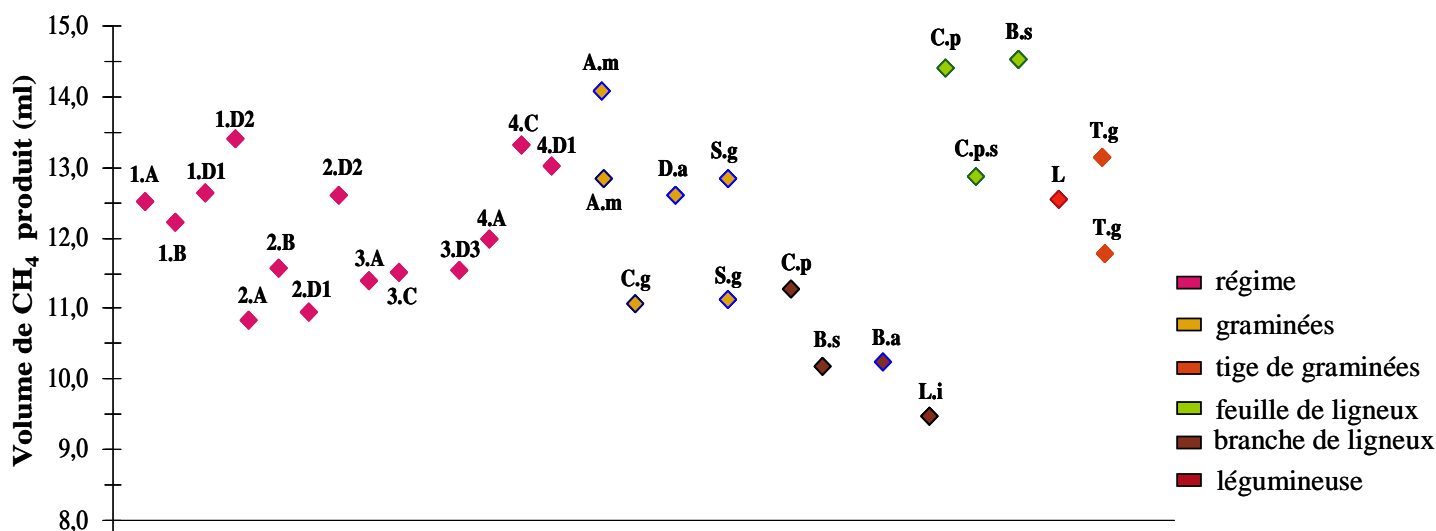


Figure 3 Production de CH₄ (ml) par fermentation in-vitro des régimes et de certaines espèces qui les composent (valeur moyenne pour les 3 séries).

Bien que certains groupes de végétaux augmentent dans l'alimentation des zébus au cours de la saison nous ne pouvons supposer que les émissions des régimes tendent vers celles de ces végétaux particuliers, car leurs effets peuvent s'opposer. En effet feuilles et branches sont plus

appâtés en fin de saison sèche mais sont aussi les aliments qui induisent respectivement la plus forte et la plus faible émission de CH₄.

3.3. Evolution des régimes alimentaires

Les animaux ont ingérés pendant le pâturage diurne de 675g à 1515g de fourrages avec une moyenne de 1051g +/- 436 g pour l'ensemble des 4 périodes.

3.3.1. Caractéristiques botaniques des régimes alimentaires

La richesse spécifique cumulée des régimes semble assez faible (Figure 4), elle s'élève à l'issue des 4 périodes à 8 espèces, et 50 à 75 % des espèces appâtées le sont dès la première période de collecte. La diversification alimentaire peut donc paraître peu importante mais elle est probablement sous-estimée car elle dépend du tri et donc directement de l'état des végétaux donc de la fragilité relative des inflorescences pour la strate herbacées.

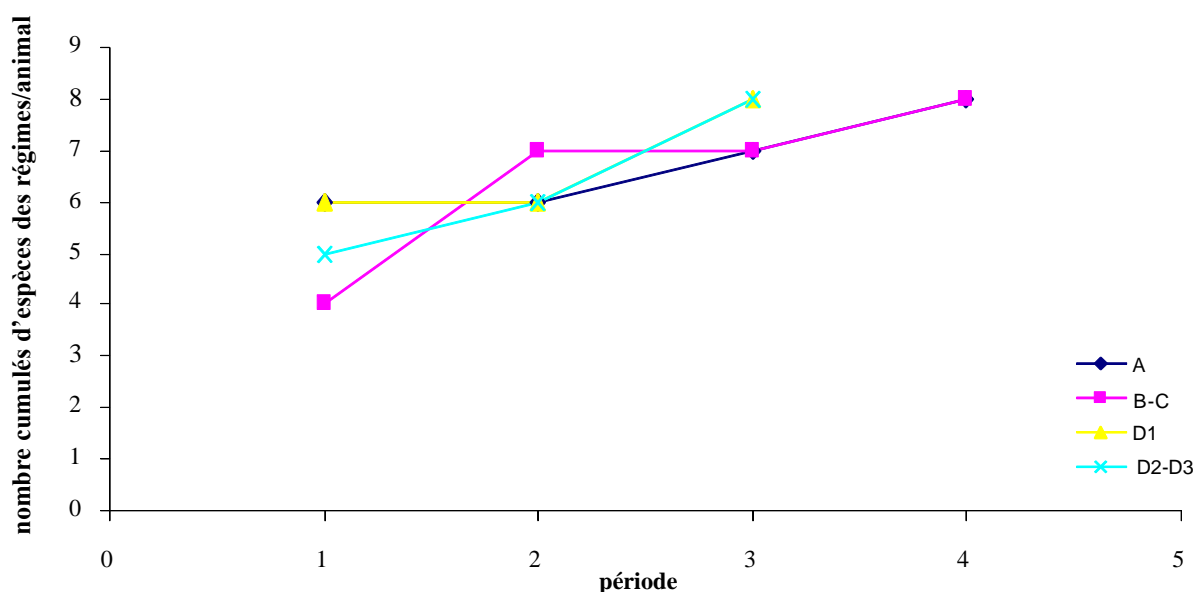


Figure 4. Richesse spécifique cumulée (nombre d'espèces) des régimes fourragers quotidiens de chaque animal par période de collecte

La composition des 14 régimes ne semble pas homogène, i.e. les proportions respectives de chacune des classes de végétaux diffèrent d'un régime à l'autre (Tableau 1, Figure 5). Une analyse plus fine de l'évolution de la proportion de chaque catégorie végétale dans le régime au cours des 4 périodes a été effectuée. Elle ne révèle aucune différence : la proportion de pailles, tige de graminées, litière, feuilles, branches ou légumineuses entre les régimes ne fluctue pas de manière significative au cours des 4 périodes (

Tableau 1).

Les régimes se composent majoritairement de paille, quelque soit le lieu ou la période considérés malgré quelques fluctuations (en moyenne : 60% en période 1, 75% en période 2 puis 85% en période 3 et enfin 67%). La litière correspond à la seconde catégorie la plus importante dans le régime, elle atteint 10% en moyenne au début de la saison de collecte puis double pour disparaître dès la 3^{ème} période. Les autres catégories de végétaux appartenant à la strate herbacée sont peu représentées (valeur maximum : 2% pour les légumineuses, 4% pour les inflorescences, 9% pour les tiges de graminées).

Les tiges de graminées correspondent à un indicateur de qualité des pâturages, leur diminution progressive reflète l'altération des sites (surtout visible à Dahra, dans le Ferlo la transhumance atténue cet effet car les animaux migrent vers des zones de meilleure qualité) (Figure 5).

A partir du 3^{ème} épisode de collecte le régime commence à se diversifier avec l'incorporation des branches de ligneux. La consommation de ligneux est maximale à la 3^{ème} période à Dahra et à la 4^{ème} période dans le Ferlo. Les animaux se nourrissent alors respectivement de branches de balanites et de *C.procera* (branches et feuilles), arbuste nouvellement rencontré dans l'environnement (Figure 5, Figure 6). Selon nos hypothèses préliminaires, la proportion de ligneux devait particulièrement augmenter au cours de la saison sèche afin de compenser la diminution du fourrage herbacé cette tendance n'est pas avérée statistiquement. Néanmoins l'augmentation des ligneux dans le régime s'accompagne de valeurs faibles de tiges de graminées donc d'une diminution de la qualité du pâturage.

Tableau 1. Résultats des tests effectués pour déterminer la variation de la composition des régimes au cours des 4 périodes de collecte.

Problématique	Test	Degré de liberté	Valeur de test	Probabilité	Significativité
la composition des régimes est elle homogène ?	X2 d'hétérogénéité	78	779,38	<0,001	oui
la proportion des pailles varie-t-elle entre les périodes ?	test de Kruskal Wallis	3	7,58	0,21	non
la proportion des tiges de graminées varient elle entre les périodes ?	test de Kruskal Wallis	3	3,91	0,27	non
la proportion de la litière varie-t-elle entre les périodes ?	test de Kruskal Wallis	3	7,08	0,06	non
la proportion des inflorescences varie-t-elle entre les périodes ?	test de Kruskal Wallis	3	5,33	0,15	non
la proportion des feuilles varie-t-elle entre les périodes ?	test de Kruskal Wallis	3	6,16	0,14	non
la proportion des branches varie-t-elle entre les périodes ?	test de Kruskal Wallis	3	4,6	0,2	non
la proportion des légumineuses varie-t-elle entre les périodes ?	test de Kruskal Wallis	3	1,4	0,7	non

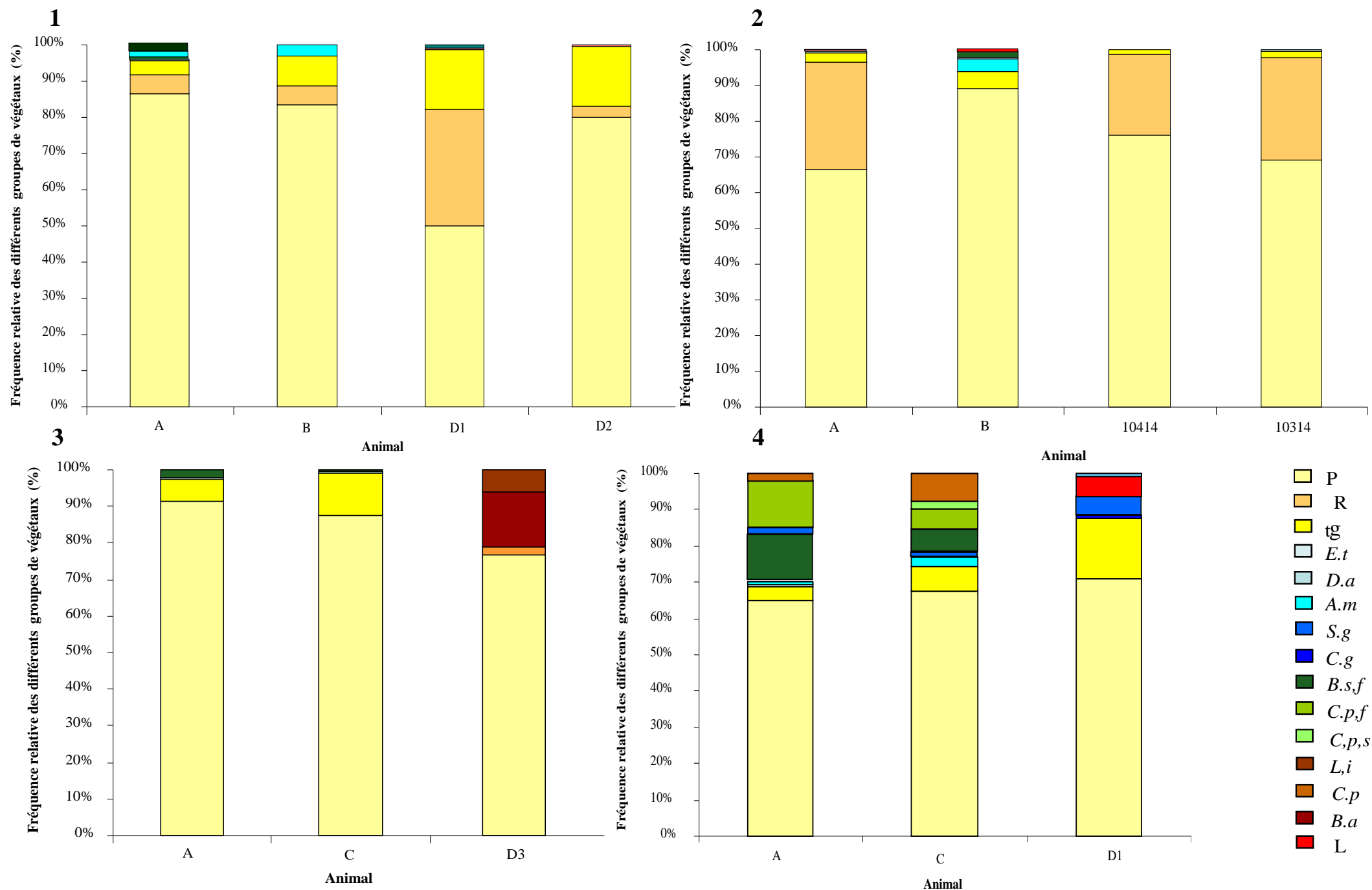


Figure 5. Composition des régimes fourragers quotidiens (fréquences relatives définies comme le % du poids sec total de l'échantillon) des 6 zébus suivis au cours des 4 périodes d'expérimentation. 1: période 1, 2: période 2, 3 période 3, 4: période 4.

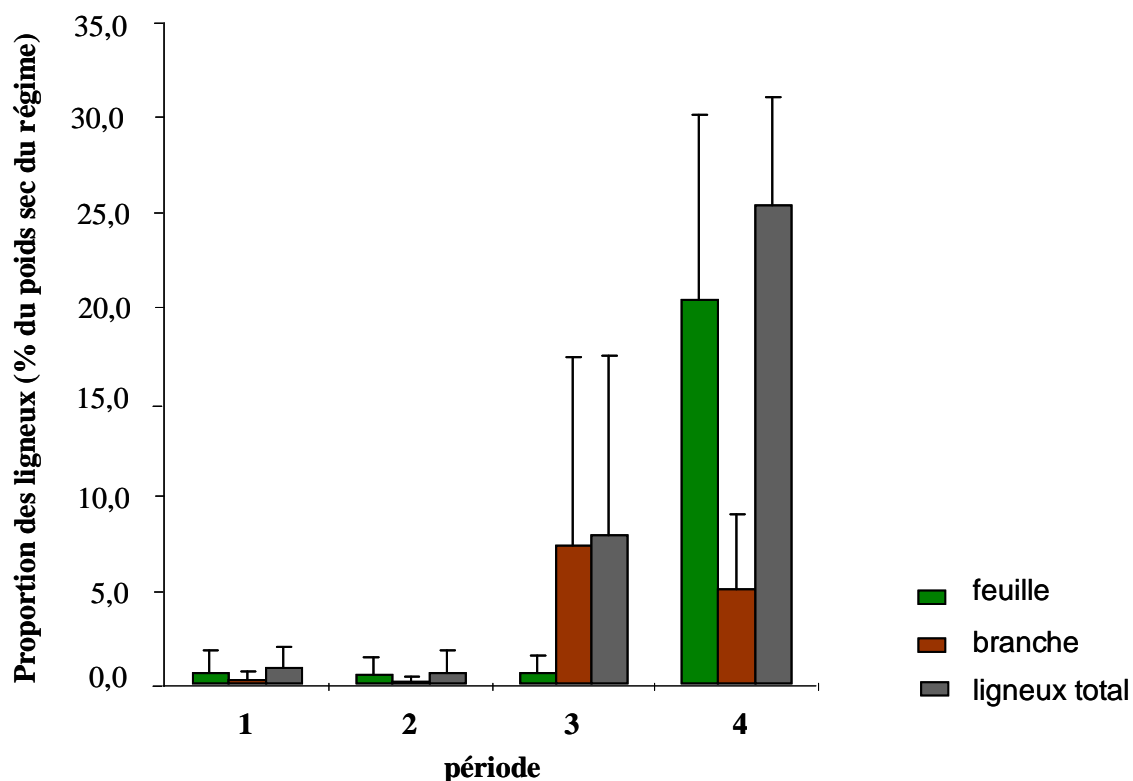


Figure 6 Contribution moyenne des ligneux (totale et par organes : feuilles et branches) aux régimes alimentaires par période de collecte

3.2.2. Caractéristiques biochimiques (régimes et fèces)

L'ambition de l'analyse était de comparer au cours des 3 mois de suivi les variations de différents paramètres biochimiques (MO, MAT, NDF, ADL et SMO) des régimes alimentaires, puis de les expliquer par les valeurs propres des classes de végétaux pour ces mêmes paramètres. Malheureusement certains échantillons : feuilles et branches de *C.procera* n'ont pas pu être analysées car le spectre obtenu par SPIR n'était pas complet, empêchant la détermination des variables biochimiques souhaitées.

Les propriétés biochimiques des régimes varient peu au cours de la saison de collecte (

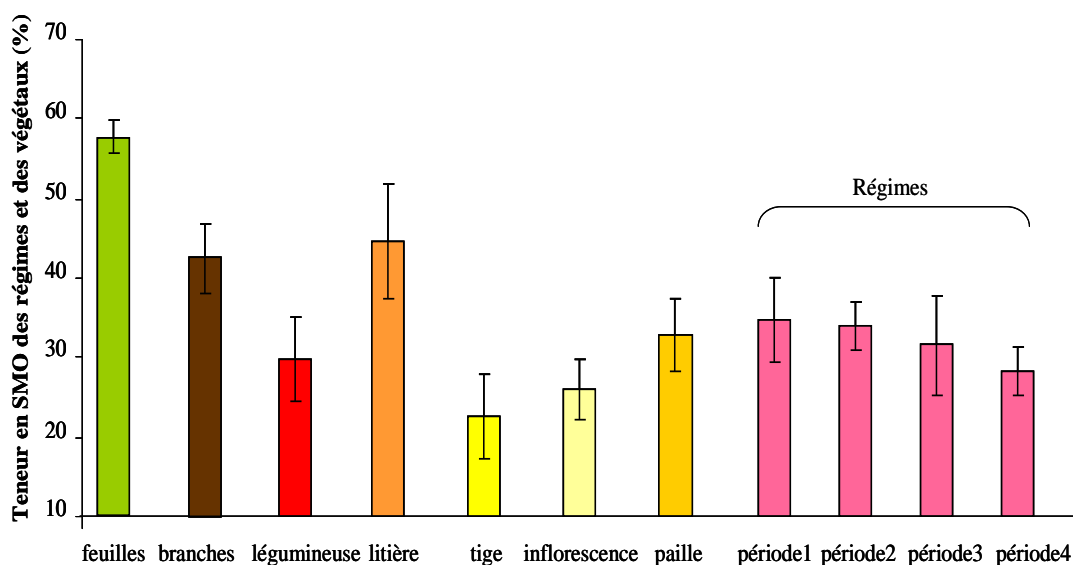
Tableau 2, Figure 7, se reporter à l'Annexe 6 pour le détail des résultats), les modifications de la composition botanique observées ne s'avèrent donc pas suffisamment importantes pour engendrer des variations significatives de la qualité biochimique des régimes. Nous supposons que les régimes étant composés principalement de paille, leurs valeurs moyennes (de SMO, MO, MAT, NDF, ADL) avoisineraient celles des pailles et qu'elles tendraient progressivement vers celles des ligneux avec l'avancée de la saison. Cependant les faibles variations observables des paramètres biochimiques des régimes ne suivent pas cette tendance. La digestibilité (SMO) diminuent progressivement alors que les ligneux semblent en moyenne plus digestibles que les graminées (paille, tige, litière, inflorescence). La teneur en protéines (MAT) et en lignine (ADL) décroissent

également avec l'avancée de la saison sèche, alors que feuilles paraissent très riches en azote (relativement aux autres végétaux) et que les branches sont les organes les plus lignifiées (Figure 7). La teneur en MO et en fibres (NDF) chute en 2^{ème} période pour augmenter, ces événements particuliers coïncidant avec la diminution de méthane ils sont peut-être liés (ce qui sera analysé ultérieurement).

En conclusion de ces résultats, les variations des indicateurs biochimiques des régimes ne suivent pas les profils attendus et leurs valeurs sont toujours assez proches de celle de la paille leur composant principale.

Tableau 2. Résultats des tests effectués évaluer les variations de la teneur en MO, MAT, NDF, ADL et SMO des régimes au cours des 4 périodes de collecte

Problématique	Test	Degré de liberté	Valeur de test	Probabilité	Significativité
la teneur en MO des régimes varie-t-elle entre les périodes ?	test de Kruskal Wallis	3	7,42	0,059	non
la teneur en MAT des régimes varie-t-elle entre les périodes ?	test de Kruskal Wallis	3	7,29	0,06	non
la teneur en NDF des régimes varie-t-elle entre les périodes ?	test de Kruskal Wallis	3	3,38	0,34	non
la teneur en ADF des régimes varie-t-elle entre les périodes ?	test de Kruskal Wallis	3	3,76	0,28	non
la teneur en SMO des régimes varie-t-elle entre les périodes ?	test de Kruskal Wallis	3	4,12	0,24	non



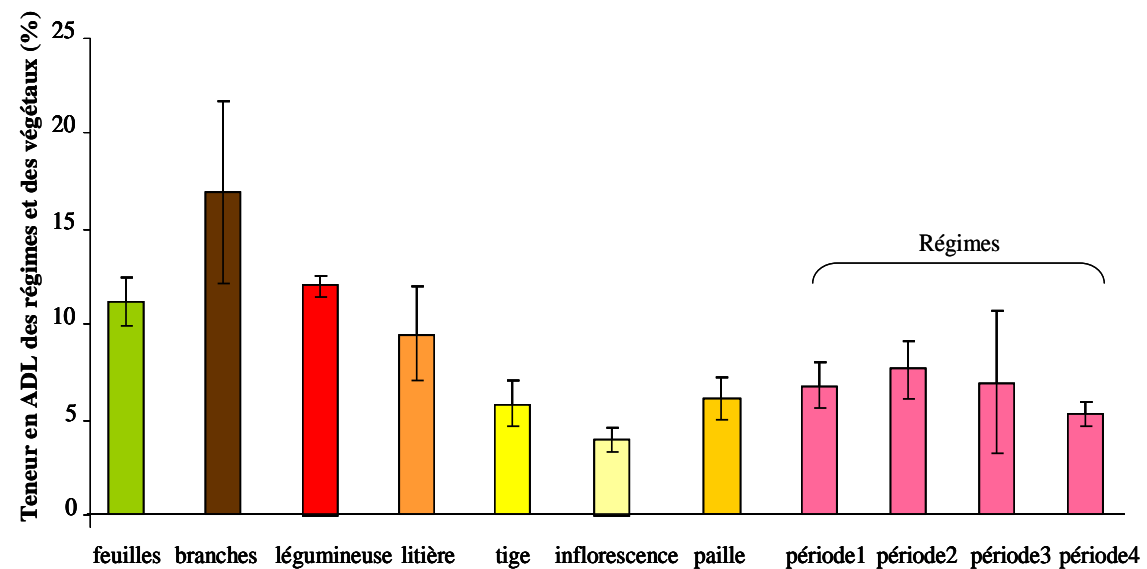
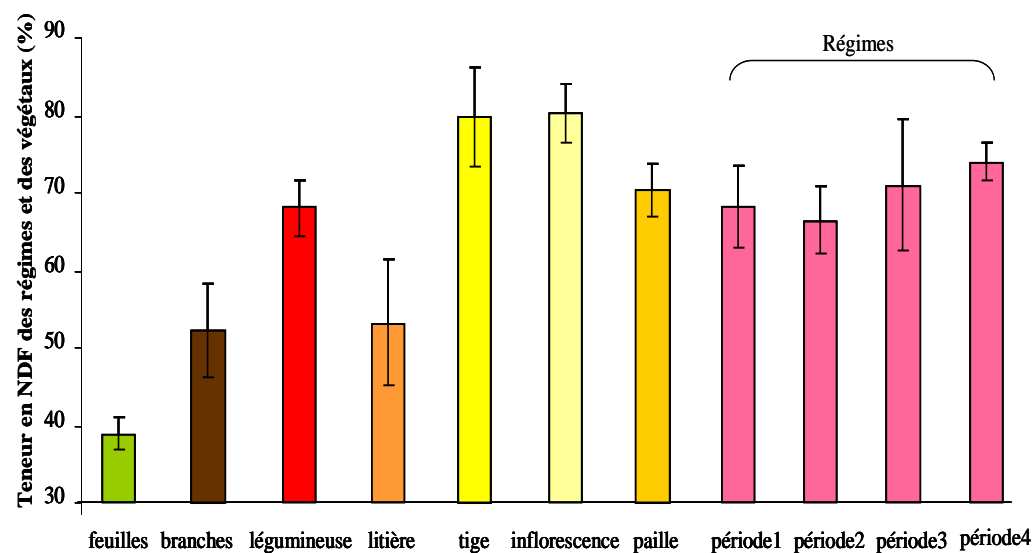
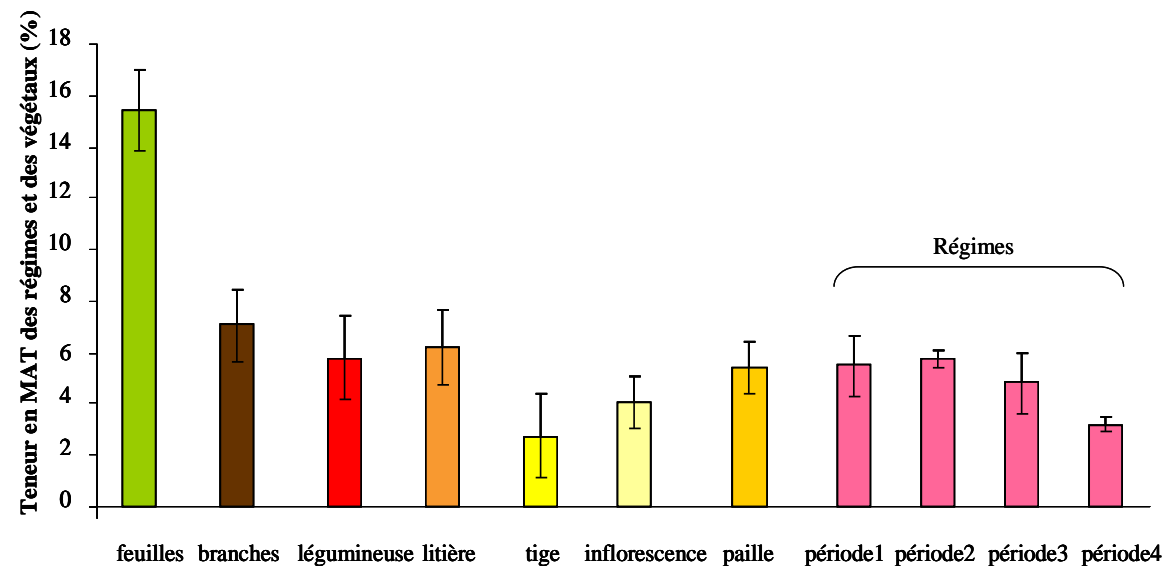
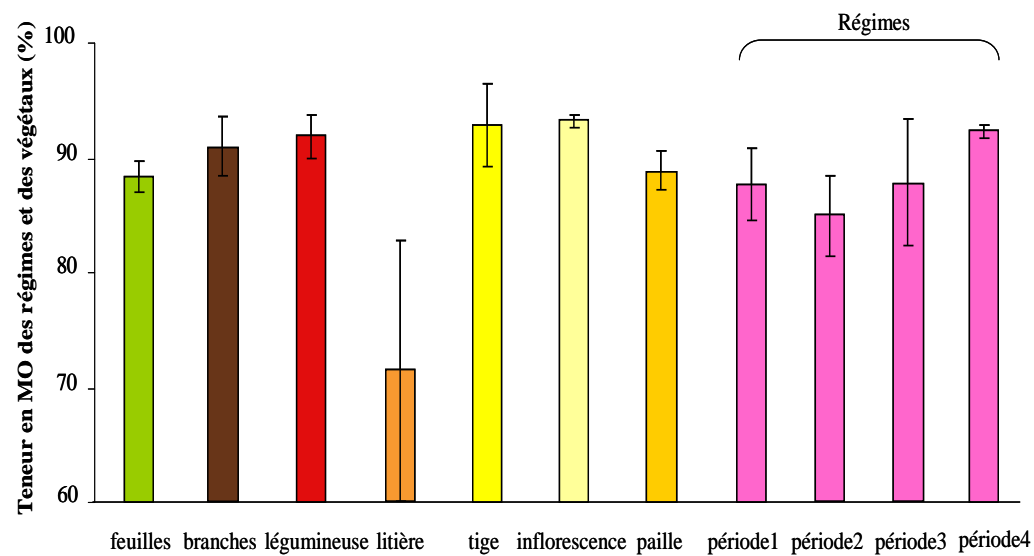


Figure 7. Composition biochimique moyenne des régimes et de leurs constituants déterminés par analyse SPIR.

Les caractéristiques qualitatives des régimes devraient être liées à celles des fèces, en ce qui concerne les paramètres communs : NDF, N (azote total) et ADL, qui dépendent de la digestibilité des aliments contenus dans le régime. Le Tableau 3 nous permet de visualiser les fluctuations moyennes de ces différentes variables par période.

Tableau 3 Valeurs moyennes de la teneur en azote, protéines, NDF et ADF des fèces pour les 4 périodes d'échantillonnage (mesurées par SPIR)

mission	N	% protéines	NDF	ADL
1	1,20 ± 0,06	7238,16±2,3	50,96 ± 2,33	8,35 ± 0,96
2	1,37 ± 0,14	8257,63±2,3	48,70 ± 2,29	8,30 ± 0,73
3	1,05 ± 0,05	6308,51±2,6	48,27 ± 2,59	7,63 ± 0,53
4	1,09 ± 0,17	6571,23±2,9	52,79 ± 2,91	9,40 ± 0,80

Aucune des variables biochimiques présentées ci-dessus ne varie au cours de la saison sèche, les différences de composition de régime déjà relativement faible n'ont pas de répercussion sur la qualité des fèces (test de Kruskal Wallis, N : $\chi^2=6.01$, ddl=2, p=0.05, différence non certifié par le test post hoc de Diegel Castellan ; NDF : $\chi^2=3.78$, ddl=2, p=0.15 ; ADL : $\chi^2=5.93$, ddl=2, p=0.05 non certifié par le test de Diegel Castellan).

3.3. Analyse des relations entre descripteurs de régimes et émissions de méthane

L'un des objectifs de notre travail est de réussir à identifier des variables biochimiques et botaniques qui soient des indicateurs du niveau d'émission potentielle de CH₄ par fermentation entérique. Il s'agit donc de cibler des paramètres mesurables en amont de la fermentation par l'analyse de la ration alimentaire, et en aval par l'étude des fèces.

Une ACP nous permet de visualiser les relations existant entre les paramètres, botaniques, biochimiques et la production de méthane des régimes (les informations relatives aux espèces ne sont pas incluses). Nous avons regroupées certaines catégories de végétaux pour limiter le nombre de variables intégrées à l'analyse, la paille, les tiges de graminées et les inflorescences sont regroupées en « graminées », mais restent indépendantes de la litière que les analyses précédentes semblent différenciées des autres classes. Les feuilles et branches sont également regroupées entre elles bien qu'appartenant à des espèces de ligneux différentes.

L'ACP retenue est celle dont les axes expliquent le maximum de variables, nous n'avons pas nécessairement privilégié celle qui représentait le mieux la variable « volume de CH₄ » car elle lésait beaucoup trop les autres.

Cette ACP analyse les relations entre paramètres biochimiques (MO, MAT, NDF, ADL, SMO) et botaniques (% de graminées, litière, feuille et branche de ligneux, et légumineuse) et le volume de CH₄ produit (figure.7. 1 et 2). Les variables les mieux représentées par l'ACP choisie sont celles biochimiques sans exception, le volume de CH₄, le % feuilles, branches, graminées et litière (notée « résidus » sur la Figure 9) moyennement expliqué. Enfin le taux de légumineuse dans le régime est relativement mal représenté.

Aucune liaison entre le volume de CH₄ et les paramètres biochimiques et botaniques ne peut donc être établie lorsqu'ils sont abordés d'une manière aussi généraliste. La fermentation peut induire des fluctuations de production de CH₄ sans être détectée par une analyse a priori de la fermentation comme l'analyse par SPIR. En revanche ces interactions dépendent des espèces contenues par le régime et le critère botanique semblerait plus pertinent pour déterminer des indicateurs fiables de l'émission de CH₄.

Une deuxième ACP ne considérant que les paramètres botaniques et le volume de CH₄ a été effectuée. Elle représente relativement bien l'ensemble des variables intégrées, or mi les branches de ligneux, mais demeure la plus acceptable et la plus efficiente pour répondre à notre objectif : trouver des indicateurs indirectes d'émission de CH₄.

L'émission de CH₄ serait essentiellement liée à la proportion de légumineuse dans le régime alimentaire. Pourtant une analyse de corrélation (corrélation de spearman) entre le volume de CH₄ produit (ml) et la proportion de légumineuse ne révèle pas de liaison particulière (n=15, $r_s=0.05 < Zr_s=0.52$ pour $\alpha=0.05$). Les zébus étant contraint de se nourrir de ligneux en fin de saison sèche, nous avons également testé la relation entre le volume de CH₄ et les proportions de feuilles et de branches dans la ration puis celle des graminées et résidus. Comme pour les légumineuses la corrélation n'est pas avérée (branches : n=15, $r_s=0.16 < Zr_s=0.52$; feuilles : n=15, $r_s=0 < Zr_s=0.52$; graminées $r_s=-0.29 < Zr_s=0.52$; résidus : $r_s=-0.10 < Zr_s=0.52$ pour $\alpha=0.05$).

Concernant les individus, l'ACP globale (Figure 9 1 et 2) a tendance à rassembler les individus par période et par site. En période 3 et 4 les pâturages des animaux en brousse (A, et C) sont particuliers et correspondent aux premiers déplacements de transhumance, il semble donc cohérent que ces individus soient représentés intimement proches. Les régimes collectés en 2^{ème} période sont

regroupés, ce qui pourrait s'expliquer par le fait qu'il s'agisse du moment où les pâturages étaient les plus homogènes (entre Dahra et le Ferlo) et aussi les plus pauvres en brousse (à Dahra le 3^{ème} épisode était encore plus critique).

L'ACP focalisée sur les variations botaniques (Figure 9 1 et 2) tend vers des résultats redondant avec ceux présentés en partie 3.2.1, les individus sans être identiques partagent de nombreux caractéristiques botaniques à l'exception des régimes A et C qui mangent une espèce nouvelle en dernière période (4.A ; 4.C), du régime 3.D.3 qui comprend beaucoup de balanites ou du 4.D1 qui au 4^{ème} épisode dérive d'un animal stabulé.

Les paramètres biochimiques et botaniques ne semblent pas constituer des indicateurs efficaces pour prédire les émissions de méthane avec le jeu de données dont nous disposons.

Concernant les fèces, une ACP globale a été effectuée (variables des régimes et des fèces), comme ci-dessus elle représente assez bien les paramètres biochimiques liés aux régimes mais sous représente les autres. Nous avons donc consacré notre étude à une ACP limitée aux paramètres biochimiques des fèces et à l'émission de CH₄ (Figure 10).

L'émission de méthane n'a semble-t-il aucune relation non plus avec la teneur en azote et en composé très peu digestible (Corrélation de Spearman, N : n=12, $r_s = -0.16 < Z_s = 0.59$; ADL1 : n=12, $r_s = 0.29 < Z_r = 0.59$ pour $\alpha = 0.05$). En revanche la teneur en fibre (NDF1), seraient positivement associée à la production de CH₄ (NDF1 : n=12, $r_s = 0.65 > Z_s = 0.59$) (Figure 8.1).

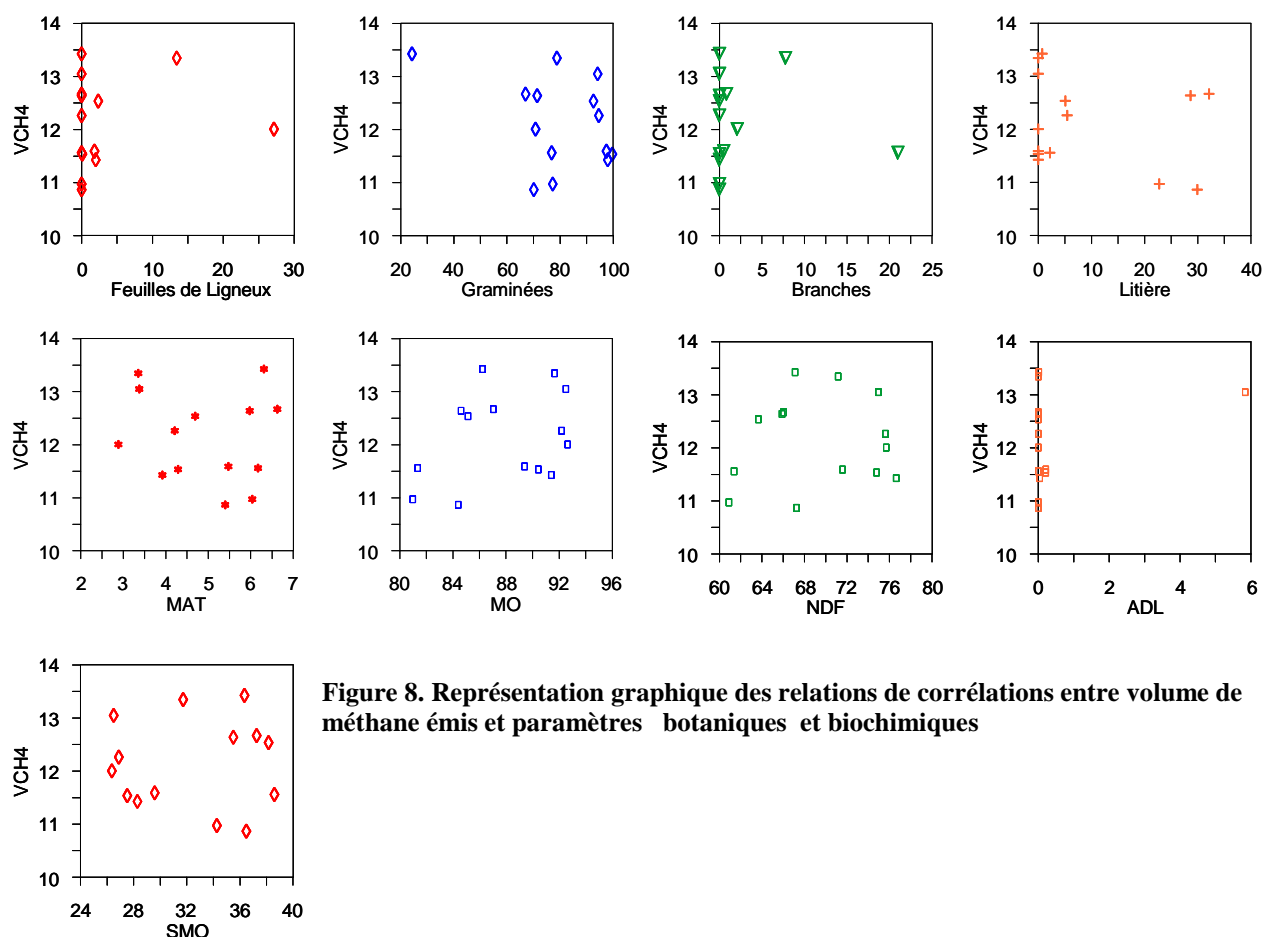


Figure 8. Représentation graphique des relations de corrélations entre volume de méthane émis et paramètres botaniques et biochimiques

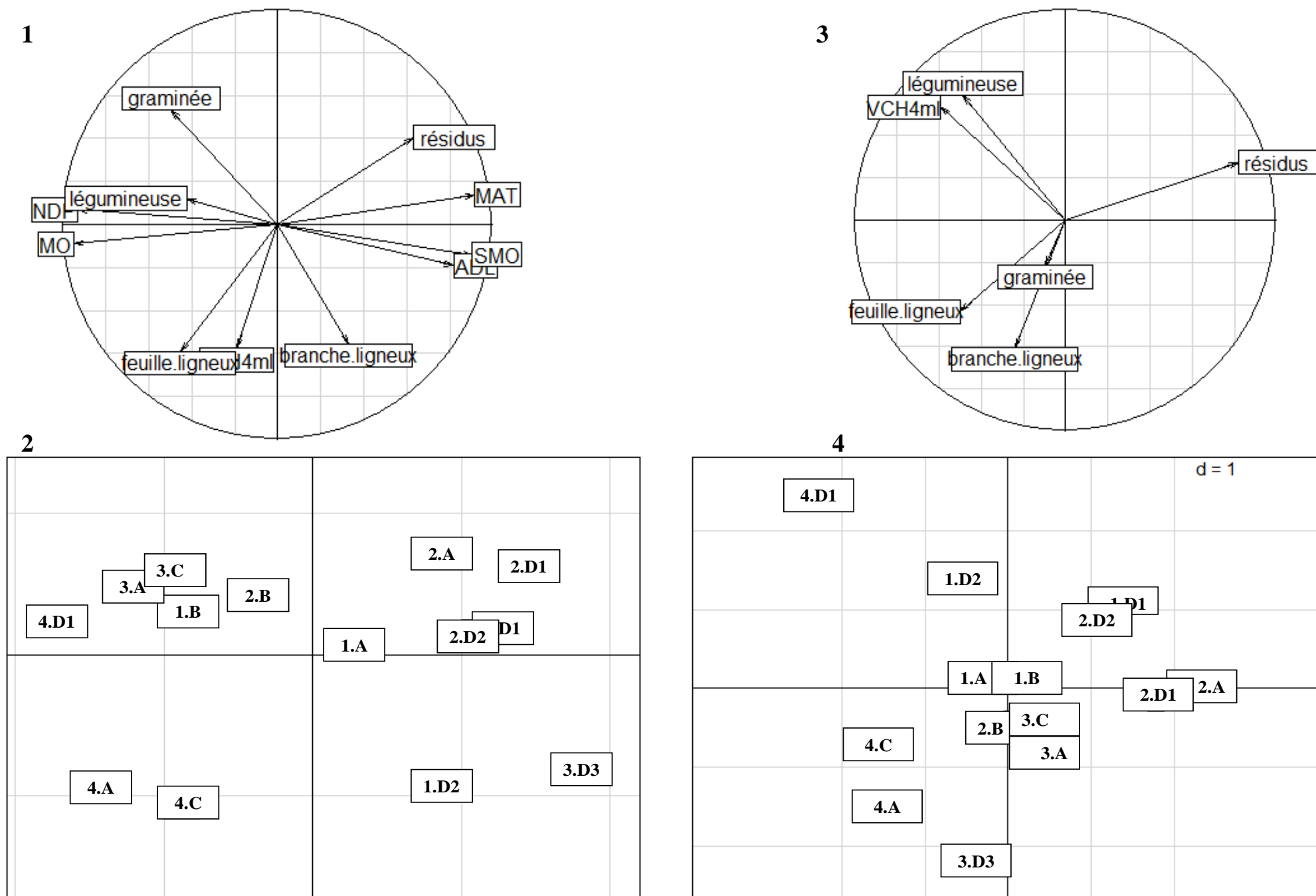


Figure 9 .Résultats de l'ACP globale intégrant les paramètres biochimiques, botaniques et la production de CH₄ : 1 projection des variables ; 2 projections des individus (régimes).
Résultats de l'ACP intégrant les paramètres botaniques et l'émission de CH₄ : 3 projections des variables ; 4 projection des individus (régimes). VCH₄ : volume de méthane émis en ml.

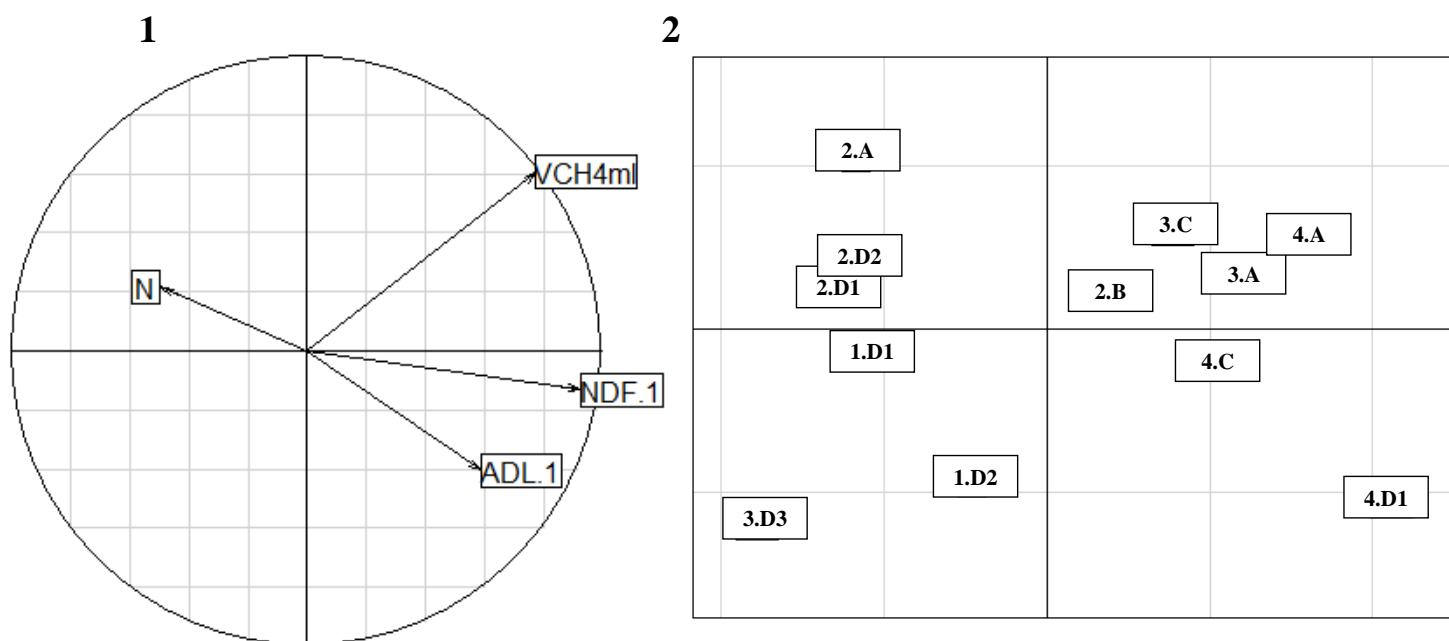


Figure 10. Résultats de l'ACP décrivant les relations entre volume de CH₄ produit, et caractéristiques biochimiques des fèces : 1 projection des variables ; 2 projection des individus (fèces). N, NDF1 et ADL1 correspondent respectivement aux % d'azote, de NDF et d'ADL des fèces analysés par SPIR.

La dispersion des individus sur le graphique (Figure 10.2) ne montre pas de structure particulière ce qui signifierait que les différents aliments sont soit comparablement digérés, soit que leur variation dans le régime total sont insignifiantes.

IV. Discussion

4.1 Améliorations méthodologiques

Des analyses de régimes alimentaires du bétail avec récolte quantitative de fourrage ont déjà été réalisées dans le Ferlo sénégalais (Guerin et al 1988) mais encore jamais dans l'objectif d'une estimation d'émission de CH₄, le protocole que nous avons envisagé a ainsi souffert de nombreux imprévus de terrain et devrait être ajusté pour répondre aux attentes du projet Animal Change.

Parmi les facteurs limitant qui ont nui à une réalisation optimale du projet, figure le temps consacré au terrain qui fut trop court que ce soit à l'échelle de la saison (3 mois seulement) ou à l'échelle de chaque mission (8-10 jours). De nombreux paramètres imprévus comme la fréquence d'abreuvement et la distance au forage des troupeaux jouent un rôle majeur dans le déroulement de la journée de travail. En effet les animaux viennent s'abreuver à un forage dans un rayon de 20km, ce qui représente plusieurs

centaines d'animaux, le temps passé au forage s'avère donc important. De plus les alentours du forage sont surpâturés de sorte que pendant tout le trajet jusqu'au puits les animaux ne s'alimentent pas. Une journée de suivi pastoral sur 2 est par conséquent perdue. Nos contraintes de temps ne nous ont pas permis d'échelonner la période de suivi tous les 2 jours, l'empreinte locale (les animaux mangent moins les jours d'abreuvement) a donc une influence forte sur nos résultats (cette situation n'est certainement pas une généralité).

Les limites de temps agissent sur la flexibilité du projet et les contraintes matérielles revêtent également une grande importance comme la disponibilité en électricité (pour les prélèvements de jus de rumen). Car au vu des multiples coupures de courant et de leurs conséquences sur le déroulement des prélèvements de jus de rumen, ainsi que sur la conservation des échantillons (congélation à -20°C à Dahra souvent impossible avant leur transport sur Dakar), il semblerait préférable de se munir d'un groupe électrogène.

Cependant le problème majeur qui a affecté le projet réside dans son manque d'autonomie sur le terrain, du point de vue du matériel et des animaux. En effet que ce soit à Dahra ou dans le Ferlo, plusieurs des zébus sélectionnés n'étaient pas dans les conditions requises (non gestante et non complémentée) malgré le fait que les éleveurs ou le responsable concerné nous ait certifié l'inverse. Il serait indispensable, comme l'a suggéré M. Tamsir Diop d'acheter les animaux sur lesquels portent le suivi. Il faudrait les intégrer à un troupeau dont l'éleveur serait un participant actif et en continu. La sollicitation ponctuelle de l'aide du pasteur Abdou Salam So ne permette pas de l'intégrer au projet, or une meilleure implication de sa part aurait probablement évité la négligence dans le choix des animaux. Il s'agirait de conférer à cet éleveur un statut d'éleveur pilote recevant une indemnité plus régulière et auquel il serait possible de confier la collecte d'information supplémentaires en l'absence de l'observateur chargé du suivi.

Enfin le nombre d'animaux suivis est trop faible et doit être augmenté (jusqu'à 5 si possible) pour que les analyses soient plus robustes. Mais cette démarche est liée aux contraintes de temps et donc aussi de la disponibilité de l'éleveur pilote.

4.2 Evolution de la production de méthane au cours de la saison sèche

L'émission de CH₄ par les zébus Gobra au cours de la saison sèche, demeure inconnue puisqu'une telle expérience nécessiterait au Sénégal un équipement comparable à celui de l'INRA de Theix pour extraire et fermenter le jus de rumen avec les fourrages. La

conservation du jus de rumen s'avère impossible, aussi évoquons nous la production de méthane dans les fermenteurs comme un « potentiel » méthanogène les mesures in-vitro ne sont pas le reflet exact des émissions in-vivo.

L'émission de CH₄ varie peu d'un animal ou d'un site à l'autre, mais le modèle statistique choisi montre que la période de collecte et donc l'avancée de la saison sèche aurait un impact sur la production de méthane. Notre hypothèse préliminaire reposait sur une variation de la production de CH₄ modifiée par le temps (augmentation ou diminution), car les animaux compensent la raréfaction des herbacées en ingérant de plus en plus d'autres végétaux et notamment des ligneux (Ayantude et al. 1999, Ickowicz & Mbaye 2001, Hiernaux & Le Houérou 2006). Ces derniers auraient des effets, sur la production de CH₄, différents du régime de base, de sorte que lors de la dernière période dont les régimes sont les plus riches en ligneux (feuilles et branches), la variation induite soit la plus forte. Cette conjecture semble d'autant plus plausible que les quantités de CH₄ émis par la fermentation individuelles des feuilles vertes et des branches se révèlent différentes de celles des graminées : plus élevée pour les feuilles, et moins élevée pour les branches (la comparaison est effectuée par rapport aux graminées qui représentent la composante principale des régimes).

Les résultats de fermentation tendent à montrer que la production moyenne de méthane par les régimes observés au cours des 4 périodes est homogène à l'exception de la 2^{ème} période de collecte. Celle-ci correspond au moment où à Dahra et dans le Ferlo, la zone de pâturage est de « moins bonne qualité ». Nous estimons la qualité du pâturage par nos observations personnelles, mais aussi par la proportion de graminées encore enracinées. Car leur présence signifie d'une part que le site n'a pas été fauché et d'autre part qu'il n'est pas surpâturé. Or à cette période la fréquence de cette catégorie de végétaux s'avérerait la plus faible, et le fourrage disponible se composait de paille et de beaucoup de litière. La litière s'avère contaminée par le sable, est donc pauvre en matière organique (comparativement aux autres végétaux), et induit donc une baisse de la MO des régimes en période 2. Ce déficit se répercute sur la production de CH₄ car la matière organique constitue le support de la fermentation bactérienne.

L'avancée de la saison sèche a donc bien un impact sur l'émission de CH₄, mais diffère de celui attendu. Il semblerait que la diversification et surtout le renforcement des ligneux dans le régime alimentaire soit moins influent que la qualité du régime, dans le cadre de notre expérience et de nos petits échantillons. Ce résultat semble particulièrement

intéressant car à l'inverse, la littérature spécialisée sur le sujet (Sauvant et al. 2011) conjecture que les régimes pauvres induisent des émissions de CH₄ plus importante chez les ruminants. Toutefois le terme de « régime pauvre » décrit par les spécialistes se réfère à un régime pauvre en aliment concentré. De plus dans les pays tempérés les glucides (substrat de la production de méthane) des fourrages distribués sont plus digestibles qu'en zone tropicale (Kurihara et al.1999), et la plus faible production de méthane avec les concentrés est liée à une fermentation des glucides de type propionique qui n'est pas méthanogène (Heindriksen et al. 2004, Doreau et al. 2011).

Nos résultats ne stipulent pas non plus que les ligneux ne modifient pas la production de CH₄ par les ruminants mais que leur faible proportion soit probablement insuffisante dans les régimes que nous avons collectés pour que de telles variations soient significatives. Les branches de ligneux sont supposées émettre moins de CH₄ car elles sont riches en tanin qui lui constitue un inhibiteur partiel de l'émission de méthane (Hess et al. 2006, Tiemann et al. 2008, Putschala et al. 2013)

Nous pouvons également supposés que l'absence d'effet des ligneux dans la production de CH₄ in-vitro dépend directement du jus de rumen des moutons donneurs. La structure de la communauté de microorganismes résulte de l'alimentation (Tajima et al. 2000, Kosherginskaya et al. 2001, Hart et al. 2013) comme pour tout écosystème. La lignine contenue dans les branches est un substrat que seul certaines bactéries sont capables de dégradées. Le fourrage distribué aux moutons ne favorise peut être pas la prolifération de ces bactérie et, l'écosystème microbien du rumen n'est donc pas spécialisé dans la digestion des ligneux.

4.3 Indicateurs de l'émission de méthane

Les variations de l'émission de méthane ne sont pas suffisamment conséquentes pour être soutenues statistiquement, cependant des fluctuations ont été observées (jusqu'à 11% de différence de production moyenne de CH₄ entre 2 périodes). Ces variations justifient la poursuite de nos recherches pour trouver des indicateurs indirectes de la production de méthane.

La formation de CH₄ dans le rumen résulte comme le rappelle la figure en Annexe2, d'une cascade d'interactions entre microorganismes dont l'étude s'avère contraignante et coûteuse (biologie moléculaire, chromatographie en phase gazeuse, fermenteurs...). L'enjeu

de notre projet est donc de développer des techniques pour shunter cette étape, soit en amont par l'analyse de fourrages, soit en aval par l'analyse des fèces.

L'analyse de fourrage pourrait se limiter à étudier les liaisons entre composition botanique et émission de CH_4 , ce qui comporterait 2 inconvénients :

- la conservation de l'étape de tri qui est fastidieuse et sujette à la subjectivité du trieur
- l'impossibilité de généraliser la méthode puisqu'elle dépendrait des espèces appréciées dans un lieu donné

Par conséquent nous voudrions privilégier des caractéristiques directement liées à la composition botanique mais utilisable et mesurable indépendamment de la connaissance botanique : les propriétés biochimiques des régimes alimentaire.

Nous n'avons pas ici réussi à lier directement ces variables biochimiques avec les émissions de CH_4 . Ceci résulte peut-être du fait que les analyses de fourrages sont réalisées par SPIR sur des échantillons de régimes qui sont composés de plusieurs catégories de fourrages (herbacées, ligneux,...) contrairement aux échantillons qui ont servi à établir les équations de conversion entre spectre SPIR et valeurs biochimiques. Les valeurs des paramètres déterminés par SPIR, correspondent à une moyenne pondérée de l'ensemble des composants avant fermentation. L'analyse fait donc abstraction des interactions des produits de fermentation de ces composants qui ont lieu dans le rumen. Elle serait de ce fait moins performante, dans le cadre de notre projet, pour un système complexe comme les régimes qu'elle ne l'est pour des fourrages monospécifiques.

Une autre explication serait que les variations des caractéristiques biochimiques du régime seraient masquées par les caractéristiques du groupe végétal majoritaire : les graminées. De ce fait la variabilité entre les régimes et leur production de CH_4 n'est pas observable en ACP lorsque l'on incorpore les variables biochimiques car elles surreprésentent l'information des graminées. En effet il peut paraître surprenant par exemple que l'ADL et la NDF soit liée négativement par l'ACP globale alors que la mesure de la NDF comprend la lignine qu'estime l'ADL, mais c'est le cas pour les graminées. De même l'opposition entre MAT et MO peut interpeler, car l'augmentation de la teneur en protéine devrait être associée à l'augmentation de la MO et non l'inverse. Cependant les pailles sont extrêmement fibreuses et contiennent donc peu d'azote ce qui engendre une association négative entre ces 2 variables.

Ces résultats ne signifient pas que les paramètres biochimiques des régimes ne soient pas des indicateurs pertinents mais leur efficacité ici n'a pas été démontrée. En effet

Santoso et Hariadi (2009) ont montrée l'existence d'une corrélation positive entre NDF contenue dans les fourrages (tige de riz, de maïs, graines de cacao) et l'émission de CH₄. De plus d'autres caractéristiques biochimiques comme la teneur en tanin sont déjà utilisés comme indicateur « antimethanogénique » (Jayanegara et al. 2009), encourageant notre désir d'identifier parmi nos variables biochimiques des indicateurs fiables.

Concernant les indicateurs potentiels en aval (fèces), l'utilisation de la SPIR est plus adaptée à nos échantillons car les valeurs de références des équations ont été mesurées sur des fèces. Les teneurs en matière azotée, en protéines, en NDF ou en lignine varient et pourraient être des indicateurs intéressants, mais seule la NDF connaît des fluctuations qui soient corrélées avec le CH₄ émis. La teneur en fibre des excréments serait en effet positivement liée au volume de CH₄ produit. Ce qui peut sembler étonnant car la NDF des aliments en amont n'est pas corrélée aux émissions de méthane.

Notre étude n'a pas permis de dégager des caractéristiques des régimes qui soient liés aux émissions de CH₄ comme nous le souhaitions. Ce qui ne signifie pas que cette hypothèse ne soit pas valide, car nos échantillons sont trop peu nombreux et leur date de collecte (et donc la diversification du régime) trop proche pour que les variations puissent être significatives. Les paramètres biochimiques demeurent intuitivement les meilleurs candidats pour définir des indicateurs fiables, mais les analyses SPIR sur des échantillons composites peuvent être insuffisamment précises et devraient être recalibrées et/ou contrôlées par quelques analyses biochimiques directes sur ces mêmes échantillons.

4.4 Contribution de ce stage au projet Animal Change

Les conséquences écologiques et humaines des changements climatiques justifient les investissements tels que le projet Animal Change pour estimer, prédire et réduire les émissions de GES. Les volumes de CO₂ ou CH₄ dégagés par les élevages sont estimés en reproduisant expérimentalement les conditions des systèmes d'exploitation sédentaires occidentales. Notre travail a donc initié une étape du projet doublement novatrice, car elle s'est adaptée au système transhumant et au système d'un pays du Sud.

Cette première expérience permettra l'ajustement d'une méthodologie efficiente pour que lors des prochaines périodes d'expérimentations les écarts de terrain soient évités et les échantillons préservés. Ce stage aura donc servi de préliminaire et sera profitable au niveau du Sénégal pour la conduite des expériences dont les résultats enrichiront les bases

de données des modèles du projet Animal Change, où les données dans les conditions des pays tropicaux sont absentes. Les futurs résultats auront donc une valeur de référence sur les émissions en pays du sud, sub-tropicaux secs où ces systèmes sur parcours représentent des dizaines de millions de têtes de bétail élevées dans des conditions très homogènes.

V. Conclusion

L'étude menée sur l'évolution saisonnière de l'alimentation des zébus gobras et de leur émission de méthane, dans le Ferlo sénégalais en période sèche a mis en évidence des variations d'émissions de CH₄ pendant les 3 mois d'expérimentation. Ces fluctuations semblent liées à la modification du régime alimentaire au cours de la saison, par la raréfaction du disponible herbacé et le report sur la litière. Les variations de production de CH₄ ne paraissent en revanche pas induites par l'augmentation de la consommation de ligneux dans le cadre de nos travaux.

Notre étude n'a pas permis d'identifier des indicateurs indirects, tels que les caractéristiques biochimiques des régimes fourragers ou des fèces pour prédire les émissions de méthane par les ruminants. Cependant nos effectifs expérimentaux étant extrêmement faibles, ces résultats ne sont que des analyses préliminaires. Ce qui confirme la vocation de standardisation méthodologique de ce stage.

Ce projet a le mérite de fournir des données fidèles à la réalité sahélienne, et les travaux qui s'en inspireront constitueront une base fiable dans l'étude des émissions de GES. Elles se substitueront aux données issues de pays tempérés jusqu'ici utilisées pour estimer la contribution du bétail sahélien. Ce projet permet enfin l'intégration des pays du Sud dans la lutte contre les changements globaux, et renforce leur participation dans la recherche internationale sur les GES. La poursuite des expériences initiées par ce stage aura donc la fonction de renforcer la coopération de la recherche internationale et le transfert de techniques lorsque les expériences seront intégralement réalisées au Sénégal

VI Bibliographie

Agreil C. & Meuret M. 2004. An improved metho for quantifying intake rate and ingestive behaviour of ruminants in diverse and variable habtats using direct observation. *Small Ruminant Research*.

Andriensen H. K. & Nielsen T. T. 2005 The geography of pastoral mobility : aspatio temporal analysis of GPS data from Sahelian Senegal. *Geo. Journal*. 64; 177-188.
rapport RPCA 2010,

Archimède H., Rira M., Eugène M., Morgavi D.P., Anaïs C., Periacarpin F., Calif B., Martin C., Marie-Magdeleine C., Doreau M., 2013. Intake, total-tract digestibility and methane emission of Texel and Blackbelly sheep fed C4 and C3 grasses tested simultaneously in a temperate and a tropical area. Proc. GGAA Conference, Dublin, 285.

Asner G. P., Elmore A. J., Olander L. P., Martin R. E., Harris A. 2004. Grazing systems, ecosystem responses and global change. *Annual Revue of Environental resources*. 29; 561-299.

Ayantude A. A., Hiernaux P., Fernandez Rivera S., van Keulen H., Udo H. M. J. 1999. Selective grazing by cattle on spatially and seasonal heterogeneous rangelon in Sahel. *Journal of Arid Environments*. 42; 261-279.

Belbis G. H. 2007. Flore du rumen : origine, composition, evolution, consequences physiopathologiques. Mémoire de thèse pour le diplôme de docteur vétérinaire. Faculté de médecine de Créteil

Belsky A. J., Matzke A., Uselman S.1999. Survey of livestock influences on stream and riparian ecosystems in the wester united states. *Journal of soil and water conservation*. 54; 419-431.

Bertrand D. 2002. La spectroscopie proche infrarouge et ses applications. *INRA Production Animale*. 15 ; 209-219

Boadi D., Benchaar C., Chiquette J. Massé D. 2004. Mitigation strategies to reduce enteric methane emissions from dairy cowq : Update review. *Canadian Journal of Animal Science*. 319-337.

McMichael et al 2007

Dönmez N., Karsh M. A., Cinar A., Aksu T., Baytok E.2003. The effects of different silage additives on rumen protozoan number and volatile fatty acid concentration in sheep fed corn silage. *Small Ruminant Research*. 48; 227-231.

Doreau M., Martin C., Eugène M., Popova M., Morgavi D.P., 2011. Leviers d'action pour réduire la production de méthane entérique par les ruminants. In : Gaz à effet de serre en élevage bovin : le méthane. Doreau M., Baumont R., Perez J.M. (Eds). Dossier, INRA *Productions Animales*, 24, 461-474.

Foley P. A., Kenny D. A., Callan J. J., Boland T. M., O'Mara F. P. 2008. Effect of dl-malic acid supplementation on feed intake, methane emission and rume fermentation in beef cattle. *Journal of Animal Science*. 87; 1048-1057.

Gac A., Béline F., Bioteau T. 2006. Flux de gaz à effet de serre (CH₄, N₂O) et d'amoniac (NH₃) liés à la gestion des déjections animales : synthèse bibliographique et élaboration d'une base de données. Rapport ADEME.

Garnett T. 2009. Livestock-related greenhouse gas emissions: impacts and options for policy makers. *Environmental science and policy*. 12; 491-503.

Guan H., Wittenberg K. M., Ominski K. O. Krause D. O. 2005. Efficacy of ionophores in cattle diets for mitigation of enteric methane. *Journa of Animal Science*. 84; 1896-1906.

Guerin H., Friot D., Mbaye Nd., Richard D., Dieng A. 1988. « Régime alimentaire de ruminants domestiques (bovins, ovins, caprins) exploitant des parcours naturels sahéliens et soudano-sahéliens. II. Essai de description du régime par l'étude du comportement alimentaire. Facteurs de variation des choix alimentaires et conséquences nutritionnelles ». *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 41 (4): 427-440.

Hart K. J., Martin P. G., Foley P.A., Kenny D. A., Boland T. M. 2013. Effects of sward dry matter digestibility on methane production, ruminal fermentation, and microbial populations of zero-grazed beef cattle. *Journal of Animal Science*. 87; 3342-350.

Hein L., Metzger M. J., Leemans R. 2009. The local impacts of climate change in the Ferlo Western Sahel. *Climatic Change*. 93; 465-483.

Heindriksen I. K., Wettstein H. R., Machmüller A., Jorg B., Kreuser M. 2005. Effects of the carbohydrate composition of feed concentrates on methane emission from dairy cows and their slurry. *Environmental monitoring and Assessment*. 107; 329-350;

Hess H. D., Tiemann T. T., Noto F., Carulla J. E., Kreuzer M. 2006. Strategic use of tannins as means to limit methane emission from ruminant livestock. International Congress Series. 1293; 164-167.

Hiernaux P. & Le Houérou H. N. 2006. *Les parcours du Sahel. Sécheresse*. 17 ; 51-71.

Hungate R. E. 1960. **Microbial Ecology of the rumen**. Symposium: selected topics in Microbial ecology. 24; 353-365.

Ickowicz A. & Mbaye M. 2001. Forêt soudaniennes et alimentation des bovines au Senegal: potential et limites. *Bois et forêts des tropiques*. 270 (4).

Jayanegara A., Togtokhbayar N., Makkar H. P. S., Becker K. 2009. Tannins determined by various methods as predictors of methane production reduction potential of plants by an in vitro rumen fermentation system; *Animal Science and Technology*. 150; 230-237.

Jonhson K. A. & Jonhson D.E. 1995. Methane emission from cattle. *Journal of Animal Science*. 73 ; 2483-2492

Kocherginskaya S. A., Aminov R. I., White B. A. 2001. Analysis of rumen bacterial diversity under two different diet conditions using denaturing gradient gel electrophoresis,

random sequencing, and statistical ecology approaches. *Environmental Microbiology*. 7; 119-134.

Koneswaran G. & Nierenberg D. 2008. Global farm animal production and global warming: impacting and mitigating climate change. *Environmental Health Perspectives*. 116; 577-582.

Kurihara M., Magner T., Hunter R. A., McCrabb G. J. 1999. Methane production and energy partition of cattle in the tropics. *British Journal of Nutrition*. 81; 227-234.

Lebel T. Diedhiou A., Laurent H. 2003. Seasonal cycle and interannual variability of Sahelian rainfall at hydrological scales. *Journal of Geophysical Research*. 108: 1-12.

Leichenko R. M. & O'Brein K. L. 2001. The dynamics of rural vulnerability to global change : the case of southern Africa. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*. 7; 1-18.

Lesschen J. P., Van den Berg M., Westhoeck H.J., Witzke H. P., Velthof G.L. Oenema. O. 2011. Greenhouse gas emission profiles of European Livestock sectors. *Animal Feed Science and Technology*

McCaughey W. P., Wittenberg K., Corrigan D. 1999. Impact of pasture type on methane production by lactating beef cows. *Canadian Journal of Animal Science*. 221-227.

McGuin S. M., Beauchemin K. A. Coates T., Colombatto D. 2004. Methane emission from beef cattle : effects of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast, and fumaric acid. *Journal of Animal Science*. 82. 3346-3356;

Moss A., R., Jouany J. P., Newbold J. 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Animal Zootech*. 49; 231-253.

Ouedraogo-Koné S., Kaboré-Zoungana C. Y., Ledin I. 2006. Behaviour of goats, sheep and cattle on natural pasture in the sub-humid zone of west Africa. *Livestock Science*. 105; 244-252

Patz J.A., Graczyk K. T., Geller N., Vittor A. Y. 2008. Disease emergence from global climate and land use change. 1473-1792.

Putchala R., Min B. R., Goetsch A. L., Sahlu T. 2005. The effect of a condensed tannin-containing forage on methane emission by goats. *Journal of Animal Science*. 83; 182-186.

Sadet S. 2008. Etude de la diversité spécifique des bactéries attachées à la paoi du rumen effet du régime alimentaire. Mémoire de thèse pour le diplôme de docteur vétérinaire. Faculté Blaise Pascale.

Sanon H. O., Kaboré-Zoungana C., Ledin I. 2007. Behaviour of goats, sheep and cattle and their selection of browse species on natural pasture in a Sahelian area. *Small Ruminant Research*. 67; 64-74.
Guérin 1987

Santoso B. & Hariadi B. T. 2009. Evaluation of nutritive value and in vitro methane production of feed stuffs from agricultural and food industry by-products. *J. Indonesian Trop. Anim. Agric*. 34; 189-196

Sauvant T. D., Giger-Reverdin S., Sernent A., Broudiscou L., 2011. Influences des régimes et de leur fermentation dans le rumen sur la production de méthane par les ruminants. In : Gaz à effet de serre en élevage bovin : le méthane. Doreau M., Baumont R., Perez J.M. (Eds). Dossier, INRA *Prod. Anim.*, 24, 433-446.

Steinfeld H., Gerber P. Wassenaar T. Cstel V., Rosales M., de Haan C. 2006. Livestock Long Shadow. FAO report.

Tajima K., Arai S., Ogata K., Nagamine T., Matsui H., Nkamura M., Aminov R. I., Benno Y. 2000 Rumen bacterial community transition during adaptation to high grain diet. *Environmental Microbiology*. 1-11.

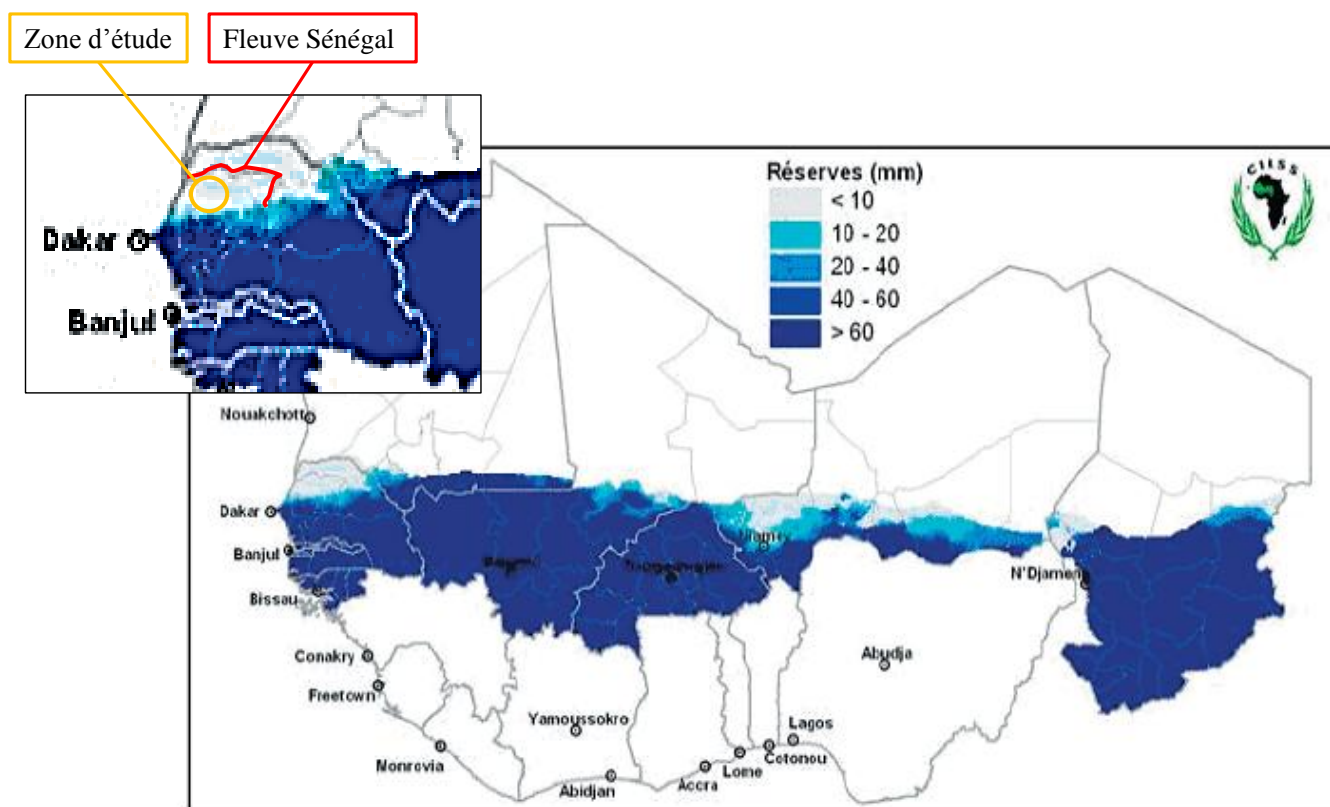
Tiemann T. T., Lascano C. E., Wettstein H. R., Mayer A.C., Kreuzer M., Hess H. D.
2008. Effect of tropical tannin rich shrub legumes *Calluandra calothyrsis* and *Flemingia macrophylla* on methane emission and nitrogen and energy balance in growing lambs. *Animal*. 2:5; 790-799

Umphrey J.E. & Staples C. R. 1992. General anatomy of ruminant digestive system. Dairy Production Guide. Florida Ext. Serv. 1-2;

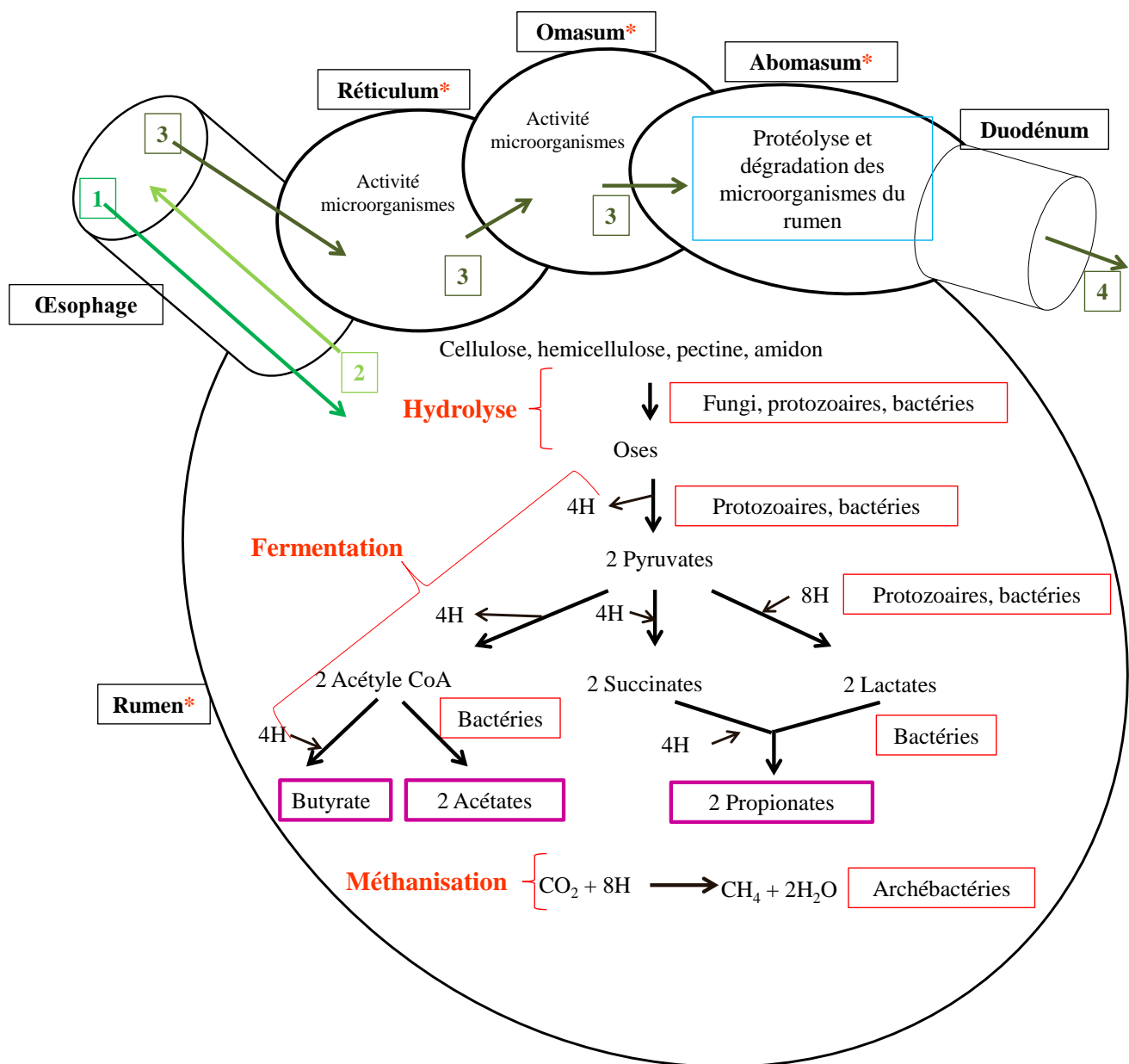
Rapport RPCA 2010. L'élevage au Sahel et en Afrique de l'Ouest. 26^{ème} réunion annuelle du Réseau de Prevention des Crises Alimentaires. Accra (Ghana). 14-16 décembre 2010

Touré I., Ickiwich A., Diop A. T., Wane A. Garba I., Toutain B., Cesaro J. D. 2012.
Systèmes d'Informationsur le Pastoralisme au Sahel. Atlas des évolutions des systemes pastoraux au Sahel 1970-2012. Cirad. FAO.

Annexes



Annexe 1. Réserve hydraulique des sols au 31 septembre 2012, extrait du Bulletin de suivi de la campagne agropastorale d'Afrique de l'Ouest N°8, AGRHYMET, septembre 2012.



Annexe 2. Schéma représentatif de la cascade de réaction lors de la fermentation entérique dans les différentes parties du pré-estomac

1 : transfert des aliments de la bouche dans le rumen après 1^{ère} mastication

2 : retour des aliments fermentés dans la bouche pour rumination

3 : transfert des aliments fermentés-ruminés dans le réticulum pour digestion

Annexe 3. Composition des réactifs et solutions tampons utilisés.

- Solution MFS, Methyl-Formaldéhyde-Saline (1l)

100ml formaldéhyde (35%)

900ml eau distillée

0.6g vert de méthyl

8.0g NaCl

- Milieu tampon de fermentation

- Trypticase 2,38g
- Eau déminéralisée 476 ml
- Solution tampon 238 ml
- Microminéral 0,12 ml
- Macrominéral 238 ml
- Resazurin 1,2
- Cysteine-HCl 297,6 mg

- $(\text{NH}_4)\text{HCO}_3$ 4g
- Eau distillée -> **1l**
- NaHCO_3 35g

- $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 13,2g
- $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,8 g
- $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 10,0g
- Eau distillée -> **100 ml**
- $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1,0g

- Na_2HPO_4 anhydre 5,7g
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,6g
- KH_2PO_4 anhydre 6,2 g
- Eau distillée -> **1L**

Annexe 4. Description des Analyses d'identification des souches de bactéries et de méthanogènes du rumen.

Dosage des méthanogènes et des bactéries

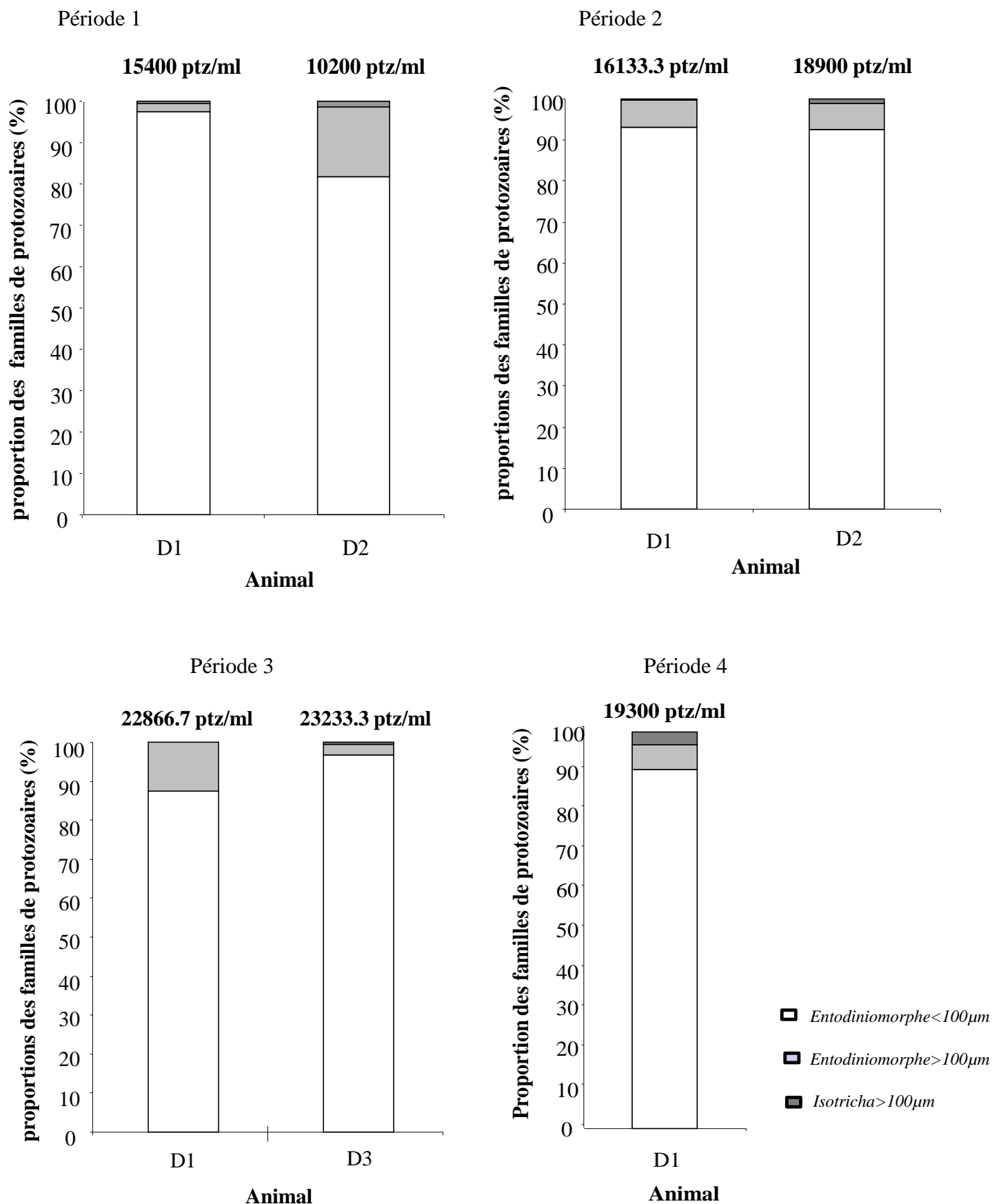
Le dosage des bactéries et archéobactéries reposent exclusivement sur des outils génétiques reposant sur les particularités génomiques des procaryotes.

L'ARNr16s qui compose la petite sous-unité des ribosomes des procaryotes s'avère polymorphe et permet de discriminer les bactéries des autres procaryotes grâce à certaines régions du gène *rrs* codant pour l'ARN16s et uniquement présentes chez les souches bactériennes (Tajima et al.1999). Tandis que le gène *mcrA* intervient dans l'expression de la methyl coenzyme A reductase, enzyme propre aux méthanogènes (Luton et al. 2002, Skilman et al. 2006, Garcia-Maldonado et al. 2012).

La quantité totale de bactéries et de méthanogène est évaluée par PCRq en utilisant des amorces cibles des gènes *rrs* et *mcrA*. Les gènes ribosomiaux existant en plusieurs copies, le résultat ne reflète pas la quantité absolue de bactéries et archéobactéries mais reste un indicateur fiable dans un dispositif expérimental comme le notre fondé sur un suivi temporel.

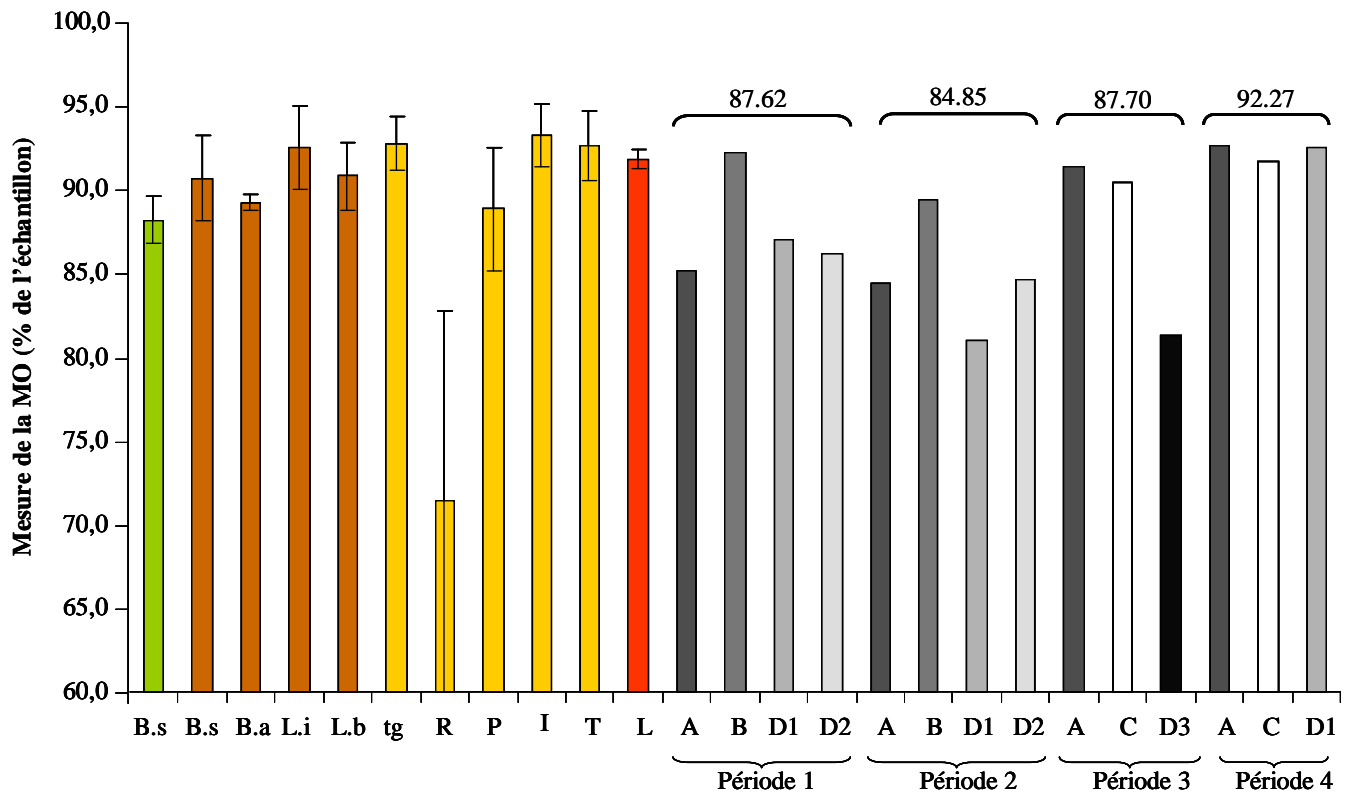
Comptage des protozoaires

L'évaluation du nombre de protozoaires présents dans le jus de rumen est appréciée par un comptage manuel sous microscope électronique. Une cellule de Neubauer est chargée avec 15µl de la solution jus de rumen-MFS, et les protozoaires comptés. Parmi les 7 familles de protozoaires connues, une seule a colonisé le rumen et est représenté par 3 genres principaux : les isotriches, les dasitriches et les entodinium divisés en 5 espèces : *I.protozoma*, *I.intestinalis*, *D.runminantium*, *E.longitudinatum*, *E.caudatum* (Oshimoto & Imai 1981). Le comptage est effectué selon le mode opératoire mis au point par l'INRA de Theix (Sildberberg.M.& Morgavi.D 2012).

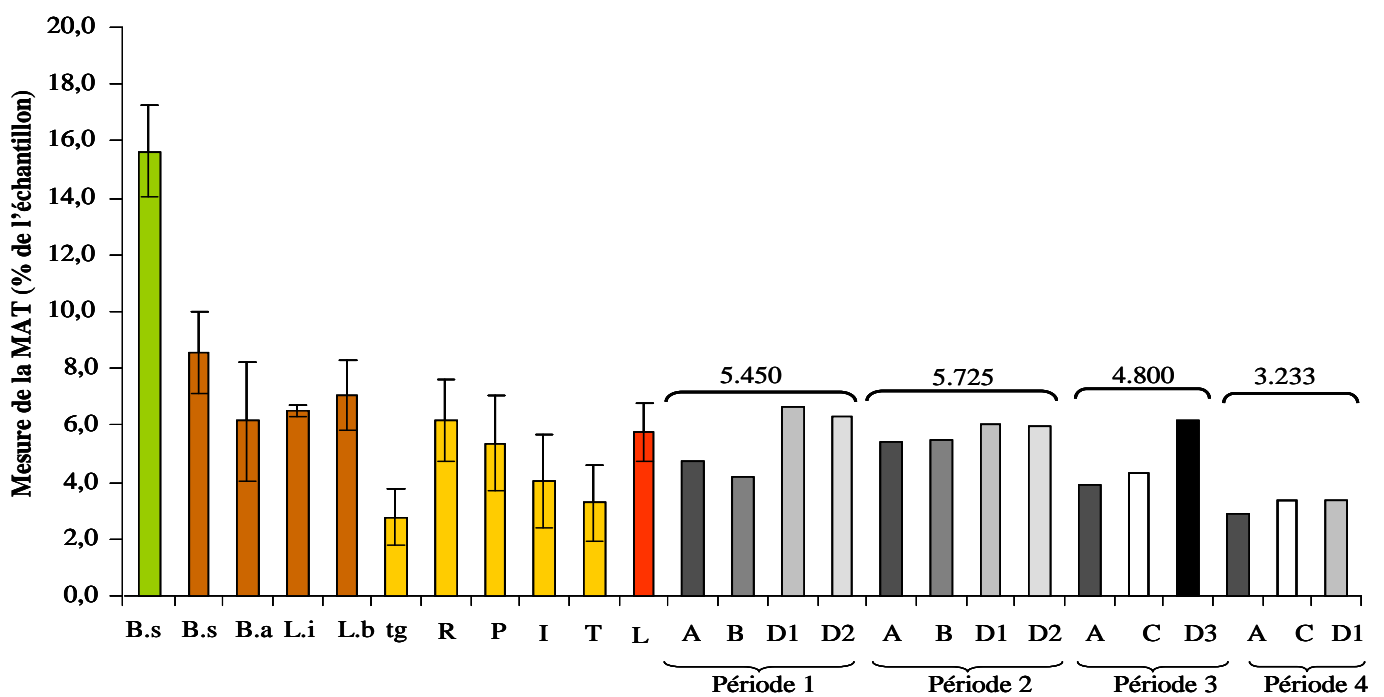


Annexe 5 Concentration des protozoaires pour chaque mission, au dessus de chaque histogramme figure la concentration totale en protozoaires.

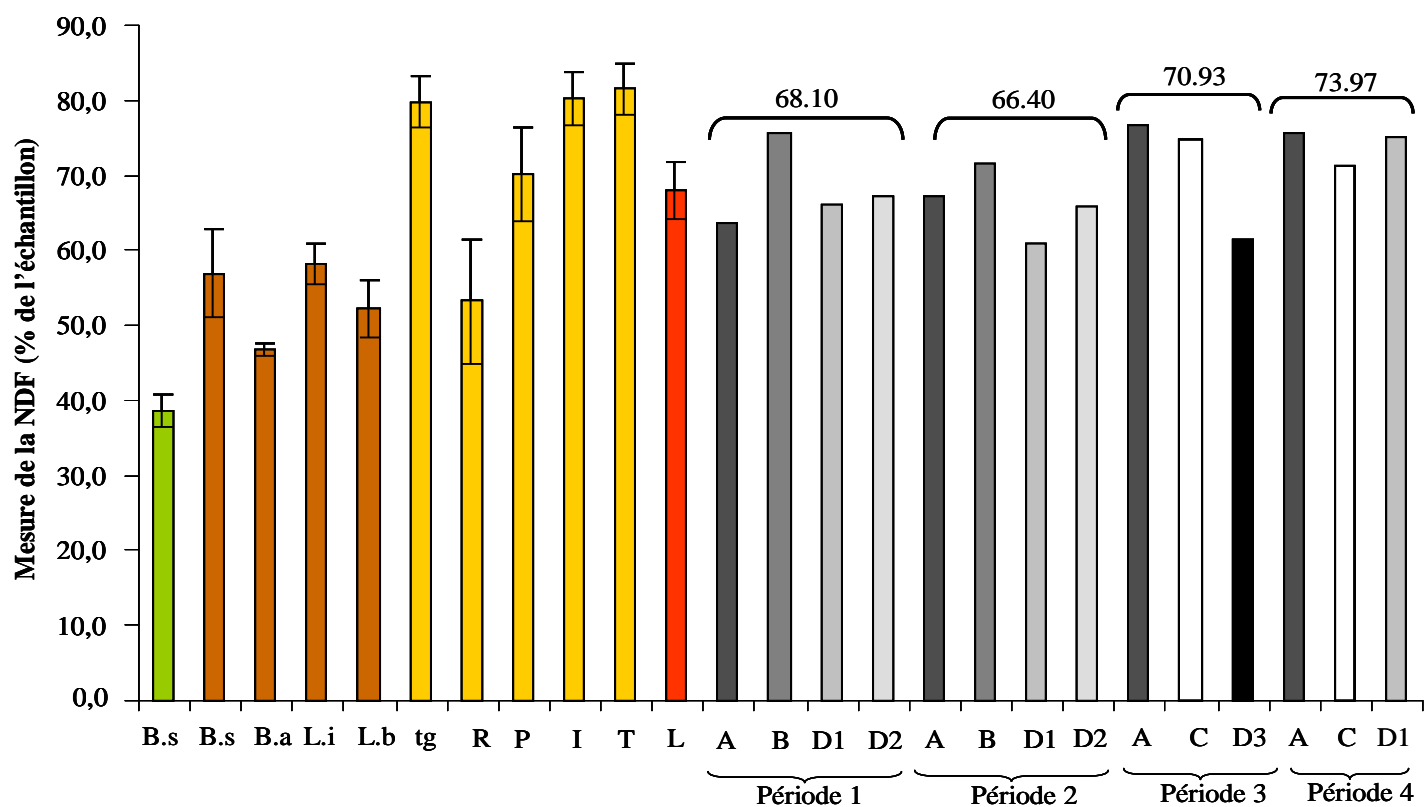
1



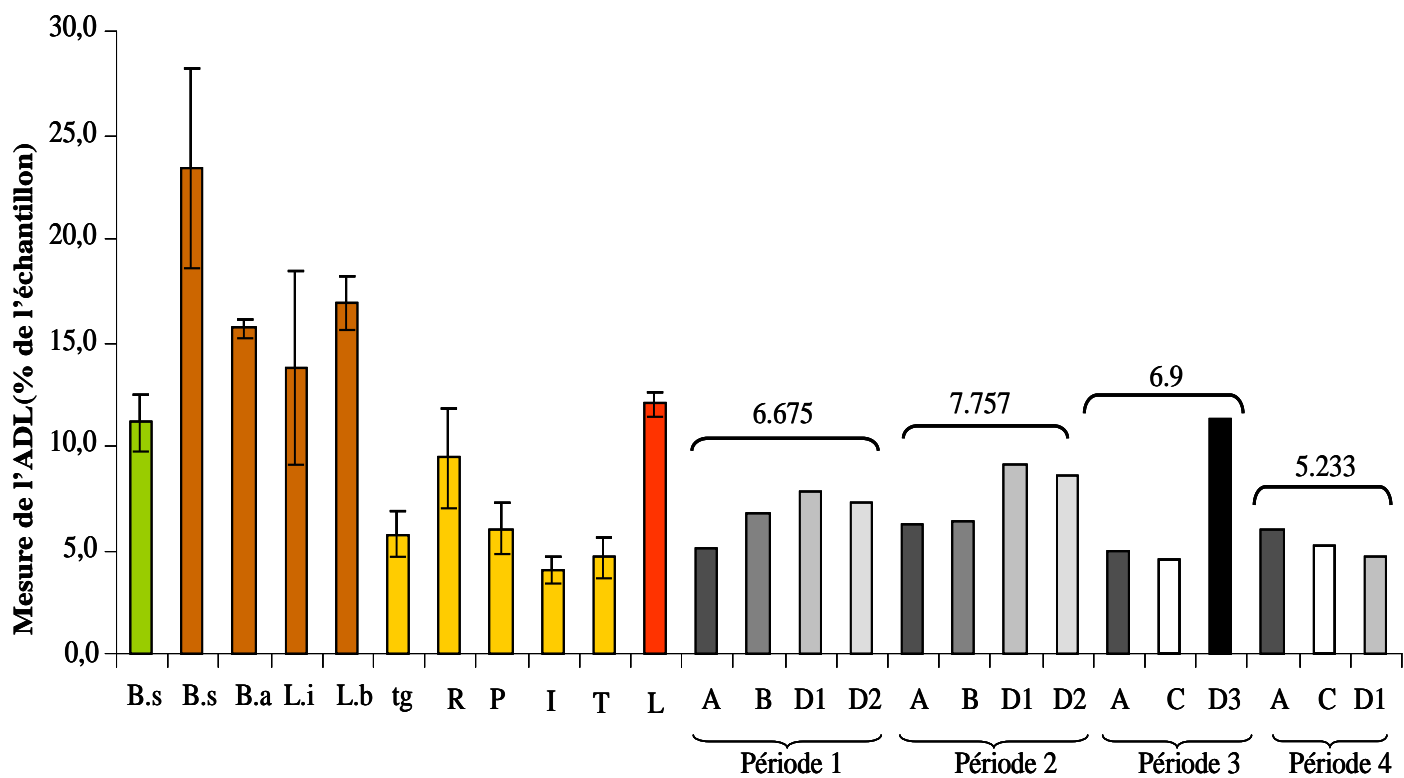
2

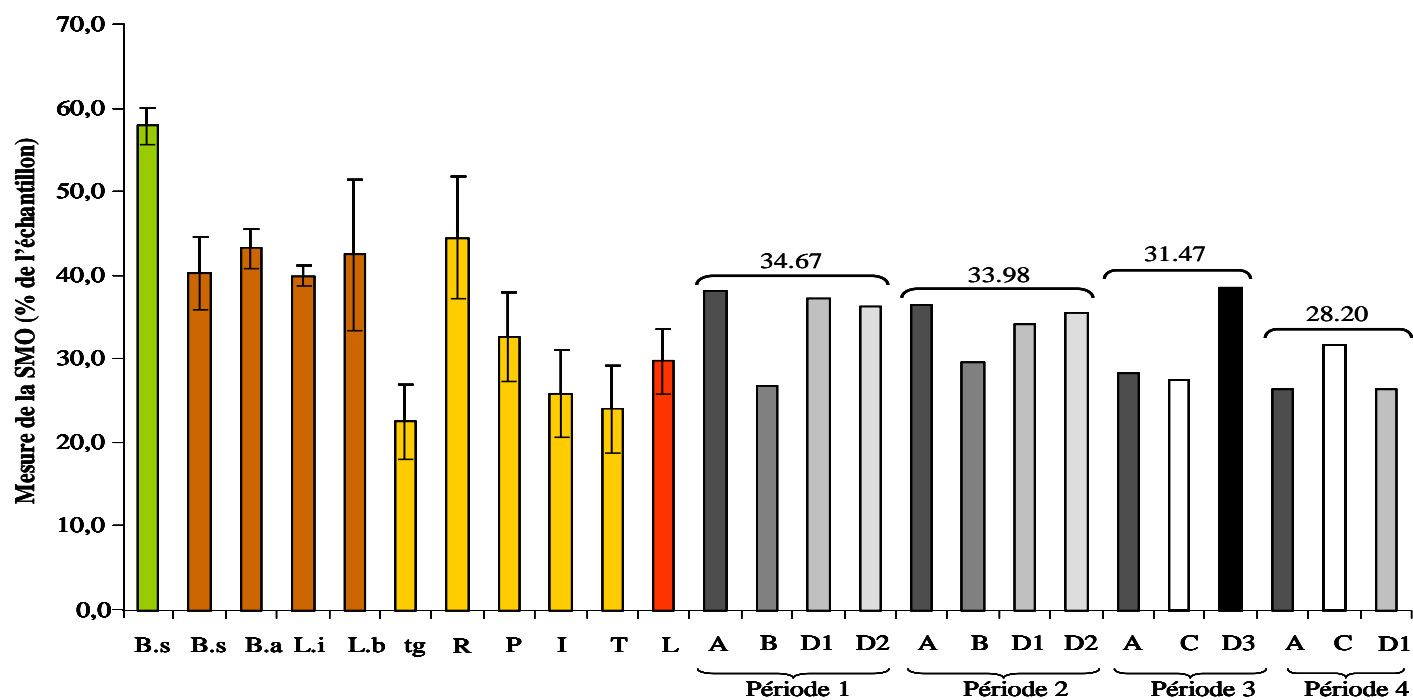


3



4





Annexe 6. Composition biochimique des régimes et de leurs constituants déterminés par analyse SPIR. 1. teneur en MO ; 2. teneur en MAT ; 3. teneur en NDF ; 4. teneur en ADL ; 5. teneur en SMO. Les chiffres au dessus des régimes correspondent à la moyenne pour la période